

Série A N° 245
N° d'Ordre : 269

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

Pour obtenir le titre de Docteur de l'Université

PAR

HSIEH-YÜ

Licencié ès-sciences de l'Université de Cheeloo

PREMIÈRE THÈSE

Contribution à l'étude chimique du *Buddleia* (*Buddleia Variabilis Hemsl*)

DEUXIÈME THÈSE

Formation et Devenir des Hétérosides chez les Végétaux

— 1 DEC 1932

Soutenues le *Novembre 1932* devant la Commission d'Examen

M. Gabriel BERTRAND, *Président.*

M^{me} RAMART-LUCAS,

M. R. COMBES,

} *Examineurs.*

LES PRESSES MODERNES
45 rue, de Maubeuge, 45
PARIS

1932

Série A N° 245

N° d'Ordre : 260

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

Pour obtenir le titre de Docteur de l'Université

PAR

HSIEH-YÜ

Licencié ès-sciences de l'Université de Cheeloo

PREMIÈRE THÈSE

Contribution à l'étude chimique du Buddleïa **(Buddleïa Variabilis Hemsl)**

DEUXIÈME THÈSE

Formation et Devenir des Hétérosides **chez les Végétaux**

Soutenues le *Novembre 1932* devant la Commission d'Examen

M. Gabriel BERTRAND, *Président.*

M^{me} RAMART-LUCAS,

M. R. COMBES,

} *Examineurs.*

LES PRESSES MODERNES

45 rue, de Maubeuge, 45

PARIS

1932



FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

Doyen MM.
Doyen honoraire.....

Professeurs
honoraires

C. MAURAIN Professeur, Physique du globe.
M. MOLLIARD,
H. LE CHATELIER
H. LEBESGUE
A. FERNBACH.....
A. LEDUC
Emile PICARD
Rémy PERRIER.....
E. GOURSAT Analyse supérieure et algèbre supérieure.
P. JANET Electrotechnique générale.
F. WALLERANT ... Minéralogie.
P. PAINLEVÉ Mécanique analytique et mécanique céleste.
M. CAULLERY Zoologie (Evolution des êtres organisés).
Emile BOREL Calcul des probabilités et Physique mathém.
H. ABRAHAM Physique.
M. MOLLIARD Physiologie végétale.
E. CARTAN Géométrie supérieure
Gabriel BERTRAND Chimie biologique.
Jean PERRIN Chimie physique.
L. LAPICQUE Physiologie générale
M^{me} P. CURIE ... Physique générale et radioactivité.
G. URBAIN Chimie générale.
L. MARCHIS Aviation.
E. VESSIOT Théorie des fonctions et théorie des transformation.
A. COTTON Physique générale.
J. DRACH Application de l'analyse à la géométrie.
Charles FABRY ... Physique.
R. LESPIEAU Théories chimiques.
P. PORTIER Physiologie comparée.
Charles PÉREZ ... Zoologie.
E. BLAISE Chimie organique.
P.-A. DANGEARD .. Botanique.
Léon BERTRAND .. Géologie structurale et géologie appliquée.....
E. RABAUD Biologie expérimentale.
G. JULIA Calcul différentiel et calcul intégral.
P. MONTEL Mécanique rationnelle.
V. AUGER Chimie appliquée.
P. WINTREBERT .. Anatomie et histologie comparées.
O. DUBOSCQ Biologie maritime.
Eugène BLOCH..... Physique théorique et physique céleste.
N. Etude des Combustibles.
L. LUTAUD..... Géographie physique et géologie dynamique
Henri VILLAT..... Mécanique des fluides et applications.
Ch. JACOB Géologie.
P. PASCAL Chimie Minérale.
Léon BRILLOUIN..... Théories Physiques.
E. ESCLANGON Astronomie.
H. BÉNARD Mécanique expérimentale des fluides.....
C. MAUGUIN..... Minéralogie.
L. BLAZINGHEM..... Botanique.
A. GUILLIERMOND .. Botanique (P. C. N.).....
A. DENJOY..... Mathématiques générales.
A. DUFOUR..... Physique (P.C.N.)
H. BÉGHIN..... Mécanique physique et expérimentale.

Professeurs

E. PÉCHARD Chimie (Enseignement P. C. N.)
A. GUILLET Physique.
M. GUICHARD Chimie minérale.
A. MICHEL-LÉVY.. Pétrographie.
A. DEREIMS!..... Géologie.
H. MOUTON Chimie physique.
L. DUNOYER Optique appliquée.
M. JAVILLIER Chimie biologique.
ROBERT-LÉVY Zoologie.
A. DEBIEHNE Radioactivité.
G. FARMOIS Physique
H. BRUHAT Physique.
F. PICARD Zoologie (Evolution des êtres organisés).
L. JOLEAUD Paléontologie.
M. FRÉCHET..... Calcul des Probabilités et Physiques mathématiques.

M^{me} RAMART-LUCAS Chimie organique.
FOCH Mécanique expér. des fluides
PANTRENIER Physique (P.C.N.)
VILLEY Mécan. phy. et expériment.
DE DROGLIE..... Théories physiques.
LABROUSTE..... Physique du Globe.
FREUNDLER Chimie (P. C. N.).
PRENANT..... Zoologie.
P. JOB..... Chimie générale.
CHRÉTIEN Optique appliquée.
BOHN Zoologie (P. C. N.)
N Chimie (P. C. N.)
COMBES Sciences naturelles P.C.N.)
GARNIER Mécanique rationnelle.

Secrétaire A. PACAUD.
Secrétaire honoraire..... D. TOMBECK.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552827_0004

A LA MÉMOIRE DE MON REGRETTÉ MAÎTRE

LE PROFESSEUR MARC BRIDEL

Professeur au Muséum d'Histoire Naturelle
Pharmacien en chef de l'Hôpital Lariboisière
Chevalier de la Légion d'Honneur

A LA MÉMOIRE DE MA MÈRE

Pieux et reconnaissant souvenir.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR GABRIEL BERTRAND

Membre de l'Académie des Sciences
Membre de l'Académie de Médecine et de l'Académie d'Agriculture
Professeur à la Faculté des Sciences
Chef de Service à l'Institut Pasteur

Hommage de respectueuse reconnaissance

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
Introduction	9
Première Partie. — <i>Etude biochimique des différents</i>	
<i>organes du Buddleia</i>	13
<i>Chapitre Premier.</i> — Etude des boutons, des fleurs, des fleurs fanées et des fruits	13
<i>Chapitre II.</i> — Etude des feuilles	16
<i>Chapitre III.</i> — Etude des écorces et des tiges ..	20
Deuxième Partie. — <i>Etude chimique du Buddléoflavo-</i>	
<i>noloside</i>	25
<i>Chapitre Premier.</i> — Préparation. Purification :	25
<i>Chapitre II.</i> — Propriétés physiques et chimiques :	29
<i>Chapitre III.</i> — Etude des produits obtenus par l'hydrolyse acide	38
A) Produit glucidique. Glucose et Rhamnose.	38
B) Produit non glucidique. Buddléoflavonol :	43
<i>Chapitre IV.</i> — Composition élémentaire et for- mule brute	46
<i>Chapitre V.</i> — Constitution chimique du buddléo- flavonoloside	51

	Pages
Troisième Partie. — <i>Etude du Buddléoside</i>	62
<i>Chapitre Premier.</i> — Préparation et Purification :	62
<i>Chapitre II.</i> — Propriétés du Buddléoside	65
1° Propriétés physiques	65
2° Propriétés chimiques	67
<i>Chapitre III.</i> — Produits obtenus par l'hydrolyse	
acide	71
1° Produit glucidique	71
2° Produit non glucidique	74
<i>Chapitre IV.</i> — Composition centésimale et for-	
mule	77
Quatrième Partie. — <i>Etude du produit mélanogène</i> ..	80
Conclusions	86
Bibliographie	90

INTRODUCTION

Le *Buddleia* (*Buddleia variabilis* Hemsl) Var. *Grandiflora*, est un arbrisseau de la famille des Loganiacées. C'est une plante originaire de la Chine et du Thibet ; elle fut transplantée en France en 1893.

Les rameaux sont dressés, l'écorce est gris verdâtre. Les feuilles, vert foncé à la face supérieure, sont légèrement amères. Les fleurs, réunies sous forme de cônes sont violettes et odorantes. La floraison a lieu de juillet à septembre.

Nous n'avons pas trouvé de travaux effectués sur cette plante. Aussi nous a-t-il paru intéressant de l'étudier. Pour cela, nous avons utilisé la méthode biochimique de Bourquelot (14) à l'invertine et à l'émulsine.

Nous avons appliqué la méthode biochimique aux différents organes du *Buddléia* : boutons, fleurs, fleurs fanées, fruits, feuilles, écorces et tiges. Au cours de ces essais, nous avons pu caractériser dans le *Buddleia*, trois hétérosides. Le premier appartient au groupe des flavones : nous l'avons nommé *buddléoflavonolosite* ; nous avons élucidé la constitution de ce principe immédiat.

Le second hétéroside est le *buddléosite*, sa constitution n'est pas définitivement établie, mais nous pensons que ce produit résulte de l'union d'un acide uronique avec un homologue du pyrocatéchol.

Nous avons signalé la présence d'un troisième produit qui est un hétéroside hydrolysable par l'émulsine, son dédou-

blement donne naissance à un produit insoluble, noir. Il ressemble de ce fait à l'aucuboside et surtout à l'aspéruloside. Nous n'avons pas pu, malgré de nombreuses tentatives, l'obtenir à l'état cristallisé. Néanmoins, sa présence est indubitable dans les feuilles de *Budleia* et ce produit cause le noircissement de ces organes au cours d'une dessiccation peu soignée.

Ce travail a été entrepris au Laboratoire de Physique Végétale du Muséum National d'Histoire Naturelle, sous la direction du regretté Professeur Marc BRIDEL.

Les heures passées à ses côtés nous permirent d'admirer toutes les hautes qualités de ce savant ; chercheur passionné et travailleur infatigable, il ne tardait pas à se faire apprécier et aimer de ses élèves. Il avait su nous transmettre le goût et le plaisir de la recherche.

En ce qui nous concerne, nous ne saurions trop dire combien nous avons été touché de l'intérêt qu'il nous a constamment témoigné, de l'appui et des encouragements continuels qu'il nous a donnés au début de ces recherches, dont il n'a pu voir les résultats.

Sa perte nous a laissé le regret de ce maître bienveillant, à la mémoire duquel nous adressons un hommage de profonde reconnaissance.

Nous tenons à exprimer à M. le Professeur Gabriel BERTRAND notre reconnaissance pour l'aimable accueil qu'il nous a réservé et l'honneur qu'il nous a fait en acceptant la présidence de cette thèse. Nous avons aussi toujours trouvé auprès de lui la plus grande bienveillance.

D'autre part, nous remercions bien vivement un chercheur passionné, M. J. RABATÉ, sous-directeur du Laboratoire de Physique Végétale, pour tous les encouragements, les judicieux conseils et l'aide bienveillante qu'il nous a prodigués au cours de ce travail. Après la disparition de notre Maître, il a pris à cœur de nous faire aboutir aux résultats de ces recherches.

Enfin, nous remercions également Mlle C. BOURDOUIL, assistante du Laboratoire de Physique Végétale, pour ses judicieux conseils.



BUDDLEIA VARIABILIS HEMSL *Var. Grandiflora*

PREMIÈRE PARTIE

Etude biochimique des différents organes du Buddléia

CHAPITRE PREMIER

Etude des boutons, des fleurs des fleurs fanées et des fruits du Buddleia

Nous avons employé, pour l'étude des différents organes du Buddleia, la méthode de Bourquelot à l'invertine et à l'émulsine. Les solutions étudiées ont été préparées de la façon suivante :

100 gr. de fleurs fraîches, par exemple, sont projetées dans 1 litre d'alcool à 80° bouillant. L'ébullition est maintenue pendant 20 minutes. Le liquide alcoolique est décanté et les fleurs sont traitées de la même façon, par de nouvel alcool à 80°. Les liqueurs alcooliques sont réunies, puis distillées au bain-marie pour en retirer l'alcool. Le liquide aqueux filtré est agité à deux reprises avec son volume d'éther. Cette première partie de la préparation doit être effectuée très rapidement (moins de 6 heures) ; nous verrons plus loin pour quelles raisons (v. p. 27). Le liquide aqueux est alors décanté dans un flacon et placé au frais, pendant deux jours. Il se forme un dépôt abondant de cristaux que l'on recueille. Ces

cristaux forment le buddléoflavonoside que nous étudierons plus loin (v. p. 27).

Le filtrat est distillé à sec. Il fournit un extrait que l'on dissout dans l'eau chaude. La solution, filtrée est complétée à 100 cm³ avec les eaux de lavage du buddléoflavonoside. On obtient ainsi un liquide dont 100 cm³ correspondent à 100 gr. d'organes frais.

Voici les résultats obtenus dans les essais à la sucrase de l'invertine et à l'émulsine des amandes amères. Les déviations sont lues, après défécation au sous-acétate de plomb, au tube de 2 dcm. et les dosages de sucres effectués sur le liquide déféqué par la méthode de M. G. Bertrand (10).

	boutons	fleurs	fleurs fanées	fruits
Rotation initiale (l=2)	— 2° 52'	— 1° 19'	— 3° 57'	— 2° 12'
— après action de la sucrase	— 4° 6'	— 2° 43'	— 4° 37'	— 3° 6'
— après action de l'émulsine	— 18'	— 44'	— 1° 1'	+ 6'
Sucre réducteur initial (p. 100 cm ³)	0,826	3,179	1,709	0,729
— après action de la sucrase	1,422	3,819	2,276	1,426
— après action de l'émulsine	1,997	4,332	2,914	1,947
<i>Par la sucrase</i>				
Changement de rotation	1° 12'	1° 24'	40'	54'
Sucre réducteur formé	0,596	0,640	0,567	0,697
Indice de réduction....	497	459	845	774
<i>Par l'émulsine</i>				
Changement de rotation	3° 48'	1° 59'	3° 36'	3°
Sucre réducteur formé	0,575	0,513	0,644	0,521
Indice de réduction....	151	256	179	174

Examinons ces résultats :

Sous l'action de la sucrase, il s'est produit un changement de déviation vers la gauche de $1^{\circ} 12'$ dans les boutons, $1^{\circ} 24'$ dans les fleurs, $40'$ dans les fleurs fanées et $54'$ dans les fruits, avec des quantités de sucre réducteur (exprimées en glucose) de 0 g, 596; 0 g, 640; 0 g, 567; 0 g, 697 pour 100 cm³. Ce qui donne des indices de réduction de 497, 459, 845, 774. Dans les boutons et dans les fleurs, les indices sont inférieurs à celui du saccharose, au contraire, dans les fleurs fanées et les fruits, ils sont supérieurs à celui du saccharose (604). Nous ne pouvons donc rien dire des sucres hydrolysables par l'invertine contenus dans ces différents organes du *Buddleia*.

Sous l'action de l'émulsine, tous les liquides ont d'abord pris une teinte jaune, puis brune. Au bout d'un jour, la coloration devient noire. Au bout de deux jours, un précipité noir s'est formé au fond du flacon ; l'action de l'émulsine est terminée au bout de 10 jours. On note un changement de rotation vers la droite de $3^{\circ} 48'$; $1^{\circ} 59'$; $3^{\circ} 36'$ et 3° . Le sucre réducteur qui s'est formé est de : (pour 100 cm³) 0 g, 675; 0 g, 513; 0 g, 644 et 0 g, 521. L'indice de réduction est de 151, 256, 179 et 174. On voit qu'il oscille autour de 180.

Les différents organes du *Buddleia* renferment donc un hétéroside hydrolysable par l'émulsine et donnant naissance, au cours de ce processus fermentaire, à un précipité noir.

CHAPITRE II

Etude des feuilles

Le liquide d'étude est préparé de la même façon que précédemment. On le divise en trois parties, chacune de 100 cm³. L'une d'elles est déféquée complètement au sous-acétate de plomb. Le précipité abondant est essoré et lavé. Le liquide est débarrassé du plomb en excès par un courant d'hydrogène sulfuré, filtré et distillé en sirop, sous pression réduite, au-dessous de 50°. Le sirop est agité avec de l'éther pour enlever l'acide acétique; on termine l'évaporation à sec, dans les mêmes conditions que précédemment. Le résidu est dissout dans l'eau et la solution amenée à 100 cm³, correspondant à 100 g. de plante. La 2^e portion est étudiée sans défécation. Ces deux liquides ont servi pour l'hydrolyse par la sucrase, puis par l'émulsine. La troisième portion sera étudiée plus loin (v. p. 18).

	Liquide déféqué	Liquide non déféqué
Rotation initiale ($l=2$)	+ 48'	— 1° 52'
après action de la sucrase	— 40'	— 2° 58'
» l'émulsine	+ 16'	— 1° 58'
Sucre réducteur initial (p, 100 cm ³)	0,294	0,601
après action de la sucrase	0,873	1,316
» l'émulsine	1,055	1,485
<i>Par la sucrase</i>		
Changement de rotation	58'	1° 6'
Sucre réducteur formé	0,579	0,715
Indice de réduction	597	650
<i>Par l'émulsine</i>		
Changement de rotation	56'	1°
Sucre réducteur formé	0,183	0,174
Indice de réduction	198	174

Remarquons que le liquide non déféqué a une déviation initiale lévogyre ($-1^{\circ}52'$) et qu'il renferme plus de sucre réducteur que le liquide déféqué qui est dextrogyre. Nous avons pu, ainsi, déceler la présence d'un hétéroside lévogyre, réducteur, précipitable par l'extrait de Saturne et non hydrolysable par les ferments employés.

Dans le liquide déféqué, sous l'action de la sucrase, on observe un changement de déviation de 58' vers la gauche, alors que le sucre réducteur augmente de 0 g, 579. L'indice de réduction est de 597, très voisin de celui du saccharose (604). Le liquide non déféqué donne sous l'action de la sucrase un changement de rotation de 1° 6' vers la gauche et 0 g, 715 de sucre réducteur, soit un indice de 650 légèrement

supérieur à celui du saccharose. Les feuilles fraîches de *Buddleia* renferment donc, probablement, du saccharose.

Sous l'action de l'émulsine, on note un retour de déviation vers la droite, 56', et le sucre réducteur formé est de 0 g, 183, l'indice de réduction est de 198 dans le liquide déféqué. Dans le liquide non déféqué, on observe un retour de la déviation vers la droite de 1° et une formation de 0 g, 173 de sucre réducteur. L'indice est de 174, voisin de celui que nous avons déterminé dans les essais précédents. Nous avons observé également dans ces deux essais la formation d'un précipité noir sous l'action de l'émulsine, suivant un processus semblable à celui précédemment signalé.

Les feuilles fraîches renferment donc également un hétéroside hydrolysable par l'émulsine en donnant un produit noir insoluble. C'est ce précipité qui contribue au noircissement des feuilles de *Buddleia* séchées sans précautions. La teneur des feuilles est environ moitié de celle des organes étudiés au paragraphe I.

Hydrolyse acide — Elle a été effectuée sur la troisième portion de liquide après l'action de la sucrase. Après l'action de ce ferment, on dose le sucre réducteur et on détermine la rotation du liquide. On ajoute alors un volume égal d'acide sulfurique à 10 % et on répartit le mélange dans des tubes scellés. Ces tubes sont chauffés au bain-marie bouillant. Il se forme un abondant précipité noir qu'on sépare par filtration.

Le tableau suivant donne les résultats obtenus (100 cm³ = 100 gr. de feuilles) :

	Rotation (l=2)	Sucre réducteur (p. 100 cm ³)	Indices
Initiale.....	— 1 52'	0,613	
après action de la sucrase	— 2° 56'	1,405	718
» 1 heure d'hydrolyse par H ₂ SO ₄ à 5 p. 100	+ 0°	2,089	236
» 2 heures » »	+ 40'	2,226	240
» 3 heures » »	+ 40'	2,278	242

L'hydrolyse par l'acide sulfurique est terminée en deux heures. Pour un changement de rotation vers la droite de 3° 36', il s'est formé 0 g, 872 de sucre réducteur. Soit un indice de 242. Le liquide se colore en jaune et possède une odeur spéciale aromatique.

Nous avons vu plus haut que l'hydrolyse par l'émulsine donne naissance, sur un liquide identique, à la formation de 0 g, 18 seulement de sucre réducteur. L'indice de réduction était voisin de 180.

L'hydrolyse sulfurique libère une quantité de sucre réducteur beaucoup plus considérable (0 g, 872 au lieu de 0 g, 18). L'indice de réduction est également plus élevé (242 au lieu de 180). Ces expériences nous incitent donc à penser que les feuilles de *Buddleia* renferment à côté de l'hétéroside produisant la mélanogénèse, un autre hétéroside, non hydrolysable par l'émulsine, mais hydrolysable par l'acide sulfurique dilué à l'ébullition. Ce produit sera isolé et étudié plus loin sous le nom de *Buddléoside*.

CHAPITRE III

Etude des écorces et des tiges

Nous avons étudié les écorces et les tiges en suivant un procédé identique à celui employé précédemment. Nous avons obtenu les résultats suivants :

1°) Essai biochimique.

	Ecorce non défèquée	Tiges non défèquées	Tiges défèquées
Rotation initiale (l=2)	— 2° 2'	— 36'	+ 2'
— après action de la sucrase	— 2° 44'	— 1° 6'	+ 32'
-- après action de l'émulsine	— 2'	+ 20'	+ 8'
Sucre réducteur initial (p. 100 mc ³)	0,220	0,872	0,600
— après action de la sucrase	0,657	1,186	0,907
— après action de l'émulsine	1,159	1,455	1,033
<i>Par la sucrase</i>			
Changement de rotation	42'	30'	34'
Sucre réducteur formé	0,437	0,314	0,307
Indice de réduction...	624	628	548
<i>Par l'émulsine</i>			
Changement de rotation	2° 42'	1° 26'	40'
Sucre réducteur formé	0,502	0,268	0,125
Indice de réduction...	190	188	190

Après l'action de la sucrase dans l'essai biochimique des écorces fraîches, la déviation recule de $42'$ vers la gauche ; il se forme 0 g, 437 de sucre réducteur exprimé en glucose, pour 100 cm^3 . L'indice 624 est voisin de celui du saccharose.

Sous l'action de l'émulsine, il se forme un précipité noir ; on observe un changement de déviation de $2^\circ 42'$ vers la droite et le sucre réducteur augmente de 0 g, 502. L'indice de réduction est de 190.

Dans l'essai biochimique des tiges non déféquées et des tiges déféquées, on observe des différences semblables à celles que nous avons constatées dans l'étude des feuilles. La déviation initiale est lévogyre ($-36'$) dans le premier cas et dextrogyre ($+2'$) dans l'autre. La quantité de sucre réducteur initial est plus grande dans le cas du liquide non déféqué. Après l'action de la sucrase, il se produit un changement de déviation vers la gauche de $30'$ dans les tiges non déféquées et $34'$ dans les tiges déféquées. Le sucre réducteur augmente de 0 g, 314 dans le premier cas et de 0 g, 307 dans le second. Les indices 628 et 548 oscillent autour de celui du saccharose (604). Les tiges fraîches de *Buddleia* renferment donc du saccharose.

Sous l'action de l'émulsine, on observe aussi la formation d'un précipité noir et un changement de rotation vers la droite de $1^\circ 26'$ et de $40'$; le sucre réducteur formé est de 0 g, 268 et de 0 g, 125. Les indices sont de 188 et de 190, très voisins de ceux que nous avons observés dans les essais précédents (180). L'hétéroside mélanogène existe également dans les écorces et les tiges du *Buddleia*. L'écorce en renferme environ une quantité double de celle des tiges et des feuilles.

2°) Hydrolyse acide ($100\text{ cm}^3 = 100\text{ gr.}$ de tiges fraîches).

Cet essai a été conduit comme plus haut (v. p. 18).

	Rotation (l=2)	Sucre réducteur (p. 100 cm ³)	Indice
Initial.....	— 36'	0,890	
après action de sucrase	— 1° 4'	1,200	617
» 1 heure d'hydrolyse par H ₂ SO ₄ à 5p.100	+ 48	1,586	200
» 2 heures » »	+ 50'	1,588	203
» 3 heures » »	+ 50'	1,588	203

L'hydrolyse est terminée en deux heures. Le changement de déviation vers la droite est de 2°, le sucre réducteur formé est de 0 g, 387, soit un indice de 203.

Le liquide a pris une teinte jaune et il s'est formé un précipité noir au fond du tube. La quantité de sucre réducteur formé par l'hydrolyse acide est supérieure à celle observée dans l'hydrolyse fermentaire par l'émulsine (0 g, 387 au lieu de 0 g, 268). Ceci tient à la présence dans les tiges du Buddléoside déjà signalé dans l'étude des feuilles.

CONCLUSIONS.

I. — Au cours de l'étude biochimique des différents organes du Buddleia, nous avons pu isoler un produit cristallisé, le buddléoflavonoloside.

II. — Nous avons démontré la présence du saccharose dans les feuillès et les tiges fraîches.

III. — Tous les organes du Buddleia renferment un hé-

téroside lévogyre, hydrolysable par l'émulsine en donnant naissance à un produit noir. Ce principe cause le noircissement des différents organes du *Buddleia* soumis à l'autolyse. Son indice de réduction enzymolytique est voisin de 180.

IV. — Les tiges et surtout les feuilles de *Buddleia* renferment un hétéroside lévogyre, réducteur, précipitable par l'extrait de Saturne et hydrolysable par l'acide sulfurique. Ces caractères correspondent à ceux que nous décrirons pour le Buddléoside.

RECHERCHE DES FERMENTS.

On sait que le *Buddleia* contient trois hétérosides, mais qu'un seul est hydrolysable par l'émulsine. Le buddléoflavanoloside et le buddléoside ne sont pas attaqués par les ferments ordinaires. Aussi avons-nous recherché si les feuilles du *Buddleia* contenaient un ferment capable d'agir sur ces hétérosides :

500 gr. de feuilles du *Buddleia* séchées à l'étuve à $+30^{\circ}$ sont grossièrement broyées, puis épuisées par percolation rapide avec de l'alcool à 70° . Le marc est séché, on l'épuise par l'alcool à 95° et enfin par l'éther. La poudre est séchée dans le vide sulfurique, pulvérisé finement. Elle forme alors une poudre grise sans odeur ni saveur.

On mélange 0 g, 50 de cette poudre à 50 cm³ de solution ou de suspension des glucides à 1 p. 100. Après détermination de la déviation et dosage du sucre réducteur, on met à l'étuve à $+30^{\circ}$. En même temps, on fait un témoin avec

1 gr. de poudre dans 100 cm³ d'eau distillée. La macération du produit fermentaire étant impossible à observer au polarimètre, il a fallu déféquer les essais à l'extrait de Saturne. Pour le buddléoside, nous avons seulement dosé le sucre réducteur dans la solution ; l'examen polarimétrique étant très difficile. Dans le tableau suivant les résultats sont ramenés au volume de 100 cm³.

	Rotation (1=2)			Sucre réducteur		
	au départ	après 15 jours	après 1 mois	au départ	après 15 jours	après 1 mois
Buddléoflavonoloside	+ 0 —	+ 0 —	+ 0 —	indosable	indosable	indosable
Buddléoside..	— 56'			0 g, 300	0 g, 074	0 g, 074
Hétéroside mélanogène	— 1°	+ 0 —	+ 0 —	0 g, 199	0 g, 338	0 g, 393

La poudre fermentaire extraite des feuilles du Buddléia renferme un ferment très actif sur l'hétéroside mélanogène puisqu'en 15 jours, cet hétéroside a été complètement hydrolysé en donnant un produit noir. Sous l'action de cette poudre, la solution de buddléoside est devenue rouge, et le sucre réducteur n'a pas augmenté. Le buddléoflavonoloside est resté intact après un mois.

Le témoin ne renferme pas de sucre réducteur et ne possède pas d'action sur la lumière polarisée.

DEUXIÈME PARTIE

Etude du Buddléoflavonolosite

CHAPITRE PREMIER

Préparation et Purification

I. — EXTRACTION DU BUDDLEOFLAVONOLOSIDE.

La préparation de cet hétéroside est très simple; néanmoins, nous avons été amenés à prendre de grandes précautions pour l'obtenir facilement et ce n'est qu'après de nombreux tâtonnements que nous avons employé le procédé suivant. Il est identique à celui que nous avons vu plus haut (v. p. 11).

1 Kg de feuilles fraîches de *Buddleia* est projeté par petites portions, dans 5 litres d'alcool à 80° bouillant. On maintient l'ébullition au réfrigérant à reflux pendant 20 minutes. Au bout de ce temps, le liquide bouillant est décanté; les feuilles épuisées sont pressées, hâchées et traitées de la même façon par 3 litres de nouvel alcool. Le marc est pressé. Les li-

queurs alcooliques sont réunies et distillées au bain-marie pour en retirer l'alcool. La solution aqueuse (environ un litre) est passée pour éliminer la plus grande quantité de la chlorophylle, puis agitée, encore tiède, avec son volume d'éther. La liqueur aqueuse inférieure est décantée, puis traitée par de nouvel éther. La solution aqueuse, ainsi privée de toute la chlorophylle est décantée dans un flacon et abandonnée en lieu frais, pendant deux jours. Il se forme un dépôt abondant de cristaux jaunes : c'est le buddléoflavonoside impur. On le recueille et on le lave à l'eau ; on le sèche dans le vide sulfurique. Une extraction bien conduite ne doit pas durer plus de six heures. En effet, le buddléoflavonoside est fort peu soluble dans l'alcool à froid et encore moins soluble dans l'eau. Dans une opération mal conduite, l'hétéroside cristallise avant qu'on ait pu éliminer toute la chlorophylle : il en est englué et la purification ultérieure est rendue, de ce fait, presque impossible. Par cette méthode, on obtient 4 g. environ d'hétéroside brut. Celui-ci se présente sous forme d'une poudre jaunâtre entièrement formée de petits cristaux.

II. *PURIFICATION* — L'hétéroside ainsi obtenu est déjà très pur, néanmoins, il est nécessaire de le faire recristalliser pour obtenir un produit parfaitement privé d'impuretés. Cette purification est rendue difficile par la faible solubilité du buddléoflavonoside dans la plupart des dissolvants. Le procédé auquel nous nous sommes arrêtés est le suivant : 2 gr. du produit brut obtenu plus haut sont pulvérisés très finement puis dissous par une longue ébullition dans un litre d'alcool à 60°. Le liquide, additionné de noir animal, est filtré sur un entonnoir à filtration chaude. Par refroidissement, l'hétéroside cristallise en fines aiguilles. On le recueille et on le purifie encore deux

fois de la même façon dans l'alcool à 60°. Le buddléoflavonoside ainsi obtenu est très pur. Une purification dans d'autres solvants (alcool méthylique par exemple) n'élève pas le point de fusion.

En partant de 2 gr. de produit brut, on obtient 1 gr. 50 de produit pur.

III. — *TENEUR EN BUDDLÉOFLAVONOSIDE DES DIVERS ORGANES DU BUDDLEIA.* — Nous verrons plus loin que cet hétéroside est excessivement peu soluble dans l'eau froide et que, de ce fait, le procédé d'extraction que nous avons choisi permet d'avoir une idée de la teneur de l'organe en buddléoflavonoside. Nous avons extrait cet hétéroside des différents organes du *Buddleia* en suivant un procédé identique à celui employé pour les feuilles. Dans le tableau suivant nous indiquons les quantités d'hétéroside *pur* obtenu pour 1 kg d'organes pris à l'état frais. Ceux-ci ont été cueillis le même jour sur un même pied.

Feuilles	3 g, 5
Boutons floraux	20 g,
Fleurs épanouies	6 g, 3
Fleurs fanées	3 g, 5
Fruits	3 g, 8

Nous voyons que les boutons floraux non épanouis sont les organes les plus riches en hétéroside puisqu'ils en renferment plus de 20 gr. au kilog.

Cependant les feuilles sont d'une récolte plus facile et nous les avons presque exclusivement employées dans la préparation du buddléoflavonoside. C'est ainsi qu'au cours de divers essais nous avons préparé plus de 80 gr. de buddléo-

flavonoloside pur : le traitement des feuilles, seul, nous en a fourni plus de 60 gr.

Nous avons d'ailleurs observé au cours de ces extractions des variations considérables dans les rendements.

L'hétéroside semble s'accumuler dans les feuilles au cours de l'été. Le tableau suivant montre d'une façon très nette cette accumulation.

15 juillet — 1 kg. de feuilles fraîches donne	2 g.	de buddléoflavonoloside pur ;
20 juillet — » » »	2 g.	» »
5 août — » » »	2 g 6,	» »
10 sept. — » » »	3 g 3,	» »
20 sept. — » » »	4 g 4,	» »
3 octob. — » » »	6 g 7,	» »

Les feuilles étaient cueillies sur des arbustes placés dans les mêmes conditions végétatives. Ces dosages approchés montrent une accumulation très nette au cours de l'été puisque la teneur en buddléoflavonoloside a plus que triplé du 15 juillet au 3 octobre.

CHAPITRE II

Propriétés du Buddléoflavonoloside

Propriétés physiques

Le buddléoflavonoloside pur forme de petites aiguilles blanc crème, sans odeur, ni saveur. Il est légèrement hydraté; chauffé à 60° — 65° dans l'appareil de Bouillot, jusqu'à poids constant, il perd 3,90 p. 100 d'eau sans s'altérer. Le produit desséché reprend en une semaine toute son eau de cristallisation. Il fond à $+ 274^{\circ}$ — 276° au bloc Maquenne.

Il est lévogyre. Son pouvoir rotatoire déterminé en solution acétique est de :

$$[\alpha]_D = -90,35 \text{ (p} = 0,0642; \text{ v} = 50 \text{ cm}^3; \text{ l} = 4; \alpha = -0,5)$$

En solution pyridinique, nous avons trouvé :

$$[\alpha]_D = -101,7 \text{ (p} = 0,2194; \text{ v} = 20 \text{ cm}^3; \text{ l} = 2; \alpha = -2,14)$$

Solubilité.

La détermination des solubilités du Buddléoflavonoloside a été déterminée dans divers liquides en agitant à 18° — 20° le solvant avec un excès d'hétéroside finement pulvérisé; 5 cm³ de liquide saturé sont évaporés dans le vide sulfurique jusqu'à

poids constant. Nous avons trouvé les chiffres suivants (arrondis).

1 gr. de buddléoflavonoside	est soluble dans	7 l. 200 d'eau ;
»	»	2 l. d'alcool méthylique ;
»	»	2 l. d'alcool éthylique à 95° ;
»	»	2 l. 800 d'alcool éthylique à 60°
»	»	2 l. d'acide acétique :
»	»	18 l. d'acétone pure.

Le buddléoflavonoside est donc extrêmement peu soluble dans les solvants usuels à froid. A chaud, il est plus soluble. L'alcool méthylique et l'alcool éthylique nous ont permis de le faire recristalliser.

Propriétés chimiques.

L'acide sulfurique pur, à froid, dissout l'hétéroside en donnant une coloration jaune : au bain-marie, cette teinte jaune fonce très rapidement et devient finalement rouge.

L'acide nitrique pur, le dissout peu à froid, mais facilement à chaud en donnant également une coloration jaune clair qui fonce peu à peu.

L'acide chlorhydrique pur le dissout en se colorant en jaune ; la coloration ne change pas par le chauffage. L'hétéroside est peu soluble, à froid, dans l'acide acétique pur, il y est très soluble à chaud, sans coloration appréciable. Ces solutions acides laissent précipiter l'hétéroside par addition d'eau. Il est très soluble dans les solutions de carbonate de sodium, concentrées ou diluées, de potasse, de soude, en se colorant en jaune franc. Il ne se dissout pas dans l'ammoniaque, même concentrée.

En solution acétique, l'hétéroside décolore l'eau de brome et la solution de permanganate de potassium.

Sous l'action du sulfate acide mercurique, il se forme un précipité amorphe.

Chauffé avec de l'acide sulfurique au demi, le buddléoflavonolose donne l'odeur spéciale et caractéristique du méthylfurfurol.

Il est légèrement réducteur. Son pouvoir réducteur a été déterminé par la méthode de M. G. Bertrand; 0 g, 203 de buddléoflavonolose ont précipité 0 g, 007 d'oxydure de cuivre. 1 gr. de buddléoflavonolose hydraté réduit comme 0 g, 0254 de glucose et le buddléoflavonolose anhydre comme 0 g, 0265.

En solution dans l'alcool à 95°, il donne :

1° Avec trois ou quatre gouttes de solution de soude une coloration jaune qui disparaît par addition d'un acide;

2° Avec quelques gouttes d'acétate de plomb un précipité jaune;

3° Avec la solution étendue de perchlorure de fer, une coloration vert brunâtre;

4° La solution alcoolique chauffée au bain-marie avec de l'acide chlorhydrique concentré et de la poudre de zinc donne une coloration orange.

Ces réactions nous indiquent que le buddléoflavonolose est un hétéroside flavonique (38).

5° Avec le réactif de Liebermann (1 gr. de nitrite de sodium dissous dans 100 grammes d'acide sulfurique concentré) (36), il donne une coloration rouge.

A) *HYDROLYSE PAR LES ACIDES.* — Le buddléo-flavonolosite est hydrolysé par l'acide sulfurique dilué, mais son hydrolyse est très pénible à cause de sa très faible solubilité dans l'eau. Nous avons fait de nombreux essais d'hydrolyse, d'abord avec de l'acide sulfurique à différentes concentrations en tubes scellés chauffés au bain-marie bouillant, puis, en faisant bouillir l'hétéroside avec de l'acide sulfurique à 6 pour 100 au bain de chlorure de calcium pendant des temps variables. Enfin, nous avons effectué l'hydrolyse par un mélange de 20 cm³ d'acide acétique pur et de 30 cm³ d'acide sulfurique à 6 pour 100 pendant des temps variables. Le chauffage en tube scellé donne de très mauvais résultats. Il y a formation de 10 pour 100 seulement de sucre réducteur. Nous donnons ci-après quelques essais qui nous ont permis de déterminer les conditions optima d'hydrolyse par les acides. Nous décrirons ensuite, en détail, une hydrolyse sulfurique et une hydrolyse sulfurique en présence d'acide acétique.

20 cm ³ d'acide sulfurique à 6 pour cent						20 cm ³ d'acide acétique pur et 30 cm ³ d'acide sulfurique à 6 p. 100			
Numéros	1	2	3	4	5	I	II	III	IV
Poids du buddléo- flavonolioside . . .	0,1750	0,1993	0,2427	0,2035	0,1626	0,1825	0,1863	0,2165	0,2231
Durée de l'hydrolyse	3 h.	4 h.	6 h.	10 h.	12 h.	4 h.	5 h.	6 h.	9 h.
z après action de l'acide (1=4)	+ 10'	+ 8'	+ 16'	+ 18'	+ 14'	+ 16'	+ 18'	+ 19'	+ 12'
Sucre réducteur p. 100	24,28	37,50	40,33	51,51	51,57	44,90	50,15	61,81	49,00
Produit non glucidique p. 100	83,30	60,06 ₁		47,78	47,90		46,56	48,11	46,93

On voit par ces chiffres que l'hydrolyse en présence d'acide acétique est plus rapide : en effet, la réaction est totale en six heures au lieu de douze heures dans le cas de l'acide sulfurique seul. Ceci tient au pouvoir solubilisant de l'acide acétique pour le buddléoflavonoloside.

1° *Hydrolyse par l'acide sulfurique à 6 pour 100.*
0 g, 1626 de buddléoflavonoloside sont placés dans un ballon muni d'un réfrigérant à reflux. On y ajoute 20 cm³ d'acide sulfurique à 6 pour 100. On chauffe au bain de chlorure de calcium pendant douze heures. La température du bain-marie est maintenue à 110° de façon que l'ébullition soit continue. Au cours de l'hydrolyse la teinte du buddléoflavonoloside change et devient jaune d'or. Ceci est dû à la formation d'un produit d'hydrolyse jaune cristallisé, insoluble dans l'eau que nous proposons d'appeler *buddléoflavanol*. Après refroidissement, les cristaux sont séparés de la liqueur acide contenant les sucres réducteurs formés au cours de l'hydrolyse en filtrant sur un creuset taré. On lave à l'eau jusqu'à élimination totale de l'acide sulfurique. Après dessiccation dans le vide sulfurique à poids constant, on obtient 0 g, 0779 de produit non glucidique, soit une proportion de 47,90 pour 100.

La liqueur acide et les eaux de lavage sont calibrées à 50 cm³. La solution présente une déviation de + 14' et contient 0 g, 0832 de sucre réducteur exprimé en glucose. Si on calcule le pouvoir rotatoire du sucre réducteur formé, on trouve :

$$[\alpha]_D = + 34^{\circ},53 \quad (v = 50; l = 4; \alpha = + 14'; p = 0 \text{ g, } 0832)$$

Le buddléoflavonoloside se dédouble donc en donnant

47,90 pour 100 d'aglycone et 51,20 pour 100 de sucre réducteur exprimé en glucose.

2° *Hydrolyse par le mélange de 20 cm³ d'acide acétique pur et de 30 cm³ d'acide sulfurique à 6 pour 100.*

0 g, 2165 de buddléoflavonoloside sont projetés dans un ballon muni d'un réfrigérant à reflux contenant 20 cm³ d'acide acétique pur et 30 cm³ d'acide sulfurique à 6 pour 100. On chauffe pendant six heures au bain de chlorure de calcium. L'hétéroside se dissout d'abord totalement, puis après un quart d'heure de chauffe, la solution commence à se troubler. Le trouble augmente, puis se résout en cristaux jaunes. L'hydrolyse terminée, le liquide est dilué à 250 cm³ avec de l'eau de façon à insolubiliser complètement le buddléoflavonol assez soluble en milieu acétique concentré. On abandonne vingt-quatre heures au frais, puis on filtre sur un creuset taré et on lave à l'eau distillée. Le creuset séché dans le vide sulfurique jusqu'à poids constant est pesé. On obtient ainsi 0 g, 1040 de produit non glucidique formant 48, 11 pour cent de l'hétéroside hydraté.

Le filtrat acide est concentré sous pression réduite jusqu'à 50 cm³. La déviation du liquide lue au tube de 4 dcm. est de + 19'. Le liquide renferme 0 g, 1113 de sucre réducteur dont le pouvoir rotatoire est de :

$$[\alpha]_D = + 35^{\circ},92 \text{ (v = 50; l = 4; } \alpha = + 19'; \text{ p = 0 g, 1113)}$$

Le buddléoflavonoloside nous a donc fourni 51,43 de sucre réducteur.

Nous avons obtenu d'autres résultats d'hydrolyse du buddléoflavonoloside. Ils concordent tous avec les dosages précédents.

En moyenne, le buddléoflavonoloside hydraté fournit

dans les mêmes conditions, 49,90 pour 100 d'aglycone et 53,70 pour 100 de sucre réducteur.

B) *HYDROLYSE DIASTASIQUE.*

1° *Emulsine.* — Le buddléoflavonoloside est presque insoluble dans l'eau. Pour en effectuer l'hydrolyse, nous avons employé le procédé qui a permis à M. Bridel de dédoubler par l'émulsine certaines hétérosides presque insolubles comme le phloridzoside et l'asébotoside considérés jusqu'alors comme non hydrolysables par ce ferment (20). Ayant mélangé intimement au mortier 0 g, 5341 de buddléoflavonoloside avec 0 g, 50 d'émulsine, nous avons fait une pâte avec un peu d'eau, puis, nous avons délayé cette pâte de façon à obtenir 50 cm³ de liquide. Le mélange est placé à l'étuve à + 30°, en présence de toluène et agité fréquemment.

Le liquide conserve le même aspect ; au bout de six mois, la déviation n'a pas changé et il ne s'est pas formé de sucre réducteur.

2° *Rhamnodiastase.* — L'expérience a été conduite comme ci-dessus ; au bout de trois mois, la rhamnodiastase, comme l'émulsine, n'a pas dédoublé le buddléoflavonoloside.

3° *Suc digestif d'escargot.* — Nous avons alors essayé de réaliser le dédoublement diastasique du buddléoflavonoloside par un liquide fermentaire, moins spécifique que les ferments précédents, mais d'une puissance diastasique considérable. Le suc digestif d'escargot répond à ces conditions.

Nous avons suivi la méthode indiquée par Giaja (32), employée par MM. Bridel et Lavieille (24) dans l'hydrolyse

du stévioside. On met dans un flacon 0 g, 5193 de buddléo-flavonolosite bien pulvérisé, 10 cm³ de suc digestif d'escargot, 40 cm³ d'eau distillée et une goutte de toluène. On place à l'étuve à + 30° et on agite de temps en temps. Pour examiner la déviation du liquide et y doser les sucres réducteurs, la liqueur est déféquée à l'extrait de Saturne et au sulfate de sodium, puis décolorée au noir animal. On effectue les mêmes opérations sur un liquide témoin ne renfermant pas de buddléoflavonolosite.

Au bout de six mois, la déviation n'a pas changé et le liquide ne referme pas de sucre réducteur provenant de l'hydrolyse possible de l'hétéroside.

Le buddléoflavonolosite n'est pas hydrolysé par le suc digestif d'escargot.

CHAPITRE III

Etude des Produits obtenus par hydrolyse acide du Buddléoflavonoside

Nous avons cherché à déterminer la nature du produit non glucidique, d'une part, et d'autre part, celle du ou des produits glucidiques qui prennent naissance au cours de l'hydrolyse acide.

A) *ETUDE DES PRODUITS GLUCIDIQUES.* — Nos essais ont été effectués sur la liqueur acide provenant de l'hydrolyse au bain de chlorure de calcium de 16 gr. d'hétéroside par l'acide sulfurique à 6 pour 100 pendant douze heures. Le liquide est filtré pour éliminer le buddléoflavonol, neutralisé au carbonate de baryum, puis concentré sous pression réduite à un volume de 150 cm³. Le liquide est alors filtré pour éliminer les sels de baryum qui se déposent pendant la concentration, puis évaporé à siccité. Le résidu sirupeux, jaune clair, réduit fortement la liqueur de Fehling, — 3 cm³ d'acide chlorhydrique concentré, additionnés de quelques milligrammes d'orcinol, puis d'une parcelle du résidu sirupeux donnent par chauffage au bain-marie une coloration

rouge orange. Cette réaction est spécifique des hexoses et des méthylpentoses. G. Bertrand (2, 2 bis).

Nous avons observé, au cours des hydrolyses sulfuriques, l'odeur caractéristique du méthylfurfurol. Nous pouvons donc penser que le buddléoflavonoside renferme du rhamnose dans sa molécule.

Les solutions d'hydrolyse observées au polarimètre nous ont permis d'établir le pouvoir rotatoire du ou des sucres formés au cours de cette réaction. Nous avons trouvé dans plusieurs expériences $[\alpha]_D = + 35^{\circ},97$; $+ 34^{\circ},53$ et $+ 35^{\circ},92$. Nous avons alors pensé que l'hydrolyse sulfurique du buddléoflavonoside donne naissance, en dehors du produit non glucidique, à un mélange équimoléculaire de deux oses qui sont le glucose et le rhamnose, ainsi que l'établissent les expériences suivantes.

1° SÉPARATION ET IDENTIFICATION DU RHAMNOSE. — Le résidu sirupeux obtenu plus haut est repris par l'alcool à 95° bouillant. Le liquide filtré est évaporé à sec et le résidu est repris par une quantité d'eau suffisante pour obtenir un sirop épais. Amorcé avec du rhamnose, le liquide se prend en une masse cristalline que l'on essore et lave avec un peu d'eau. Les cristaux séchés dans le vide sulfurique sont formés par du rhamnose pur.

On peut également séparer le rhamnose du glucose en faisant fermenter ce dernier par la levure de bière. La fermentation terminée, le liquide est déféqué à l'extrait de Saturne, puis on élimine l'excès de plomb par un courant d'hydrogène sulfuré. On filtre et on évapore le filtrat à sec. Le résidu repris par un peu d'eau abandonne le rhamnose à l'état cristallisé. On le recueille comme plus haut.

Identification du rhamnose. — Les cristaux ainsi obtenus sont bien formés. Projetés sur le bloc Maquenne à $+ 85^{\circ}$, ils se déshydratent; à $+ 90^{\circ}$, ils se liquéfient, mais ils ne fondent instantanément qu'à $+ 92^{\circ} - 94^{\circ}$ M. Will (40) et M. Gernez (31) indiquent comme point de fusion du rhamnose pur $+ 93^{\circ}$.

Le pouvoir rotatoire est de :

$$[\alpha]_D = + 8^{\circ},51 \text{ (l = 2; v = 10; p = 0.1586; } \alpha = + 16^{\circ})$$

Nous avons aussi déterminé le pouvoir réducteur par la méthode de M. G. Bertrand. Partant d'une solution à 0 g, 1586 de sucre dans 10 cm³ d'eau, le dosage effectué deux fois sur 2 cm³ de solution nous a donné en rhamnose 0 g, 1608 et 0 g, 1595 pour les 10 cm³ de solution mère.

Des essais comparatifs effectués sur du rhamnose pur nous ont donné des résultats semblables. De même, les réactions suivantes se sont montrées identiques.

a) *Réaction de l'orcinol chlorhydrique.* — On met quelques milligrammes de sucre dans un tube à essai, quelques mmg. d'orcinol et 3 cm³ d'acide chlorhydrique concentré. Le mélange chauffé doucement au bain-marie, se colore en rouge foncé (G. Bertrand, 2, 2 bis).

b) Chauffé avec 5 cm³ d'acide sulfurique au demi, le sucre étudié donne l'odeur caractéristique du méthylfurfurol.

c) *Réaction à l'acétate d'aniline.* — On peut caractériser le méthylfurfurol formé dans la réaction précédente en le faisant réagir sur une bande de papier imprégnée d'acétate d'aniline. Le papier se colore en rose.

d) *Réaction du Naphtol α .* — Dans un tube à essai, on dissout un peu de sucre dans 1 cm³ de solution de naphtol α .

On dépose dans le fond du tube 2 cm³ d'acide sulfurique concentré. Il se forme une coloration violette qui devient rouge si on agite. Par addition d'eau, la coloration violette réapparaît et persiste longtemps.

e) *Formation de rhamnosazone*. — 5 cm³ de solution du sucre à identifier sont additionnés de 5 cm³ d'une solution acétique de phénylhydrazine. Le tube est chauffé au bain-marie bouillant pendant un quart d'heure. Il se forme de fines aiguilles jaunes, mâclées en oursins. On les recueille et on les lave à l'eau distillée. Séchés dans le vide sulfurique, ils présentent au bloc Maquenne, un point de fusion instantané de + 193° — 194°. La rhamnosazone témoin fond, dans les mêmes conditions, à + 194°. La rhamnosazone est soluble dans l'acétone et dans l'alcool.

Le rhamnose fait donc bien partie de la molécule du buddléoflavonolosite.

2° SÉPARATION ET IDENTIFICATION DU GLUCOSE. — Le glucose, en présence d'un autre sucre réducteur, peut être très difficile à obtenir cristallisé. Aussi avons-nous transformé le glucose fourni par l'hydrolyse acide de buddléoflavonolosite en méthylglucoside, corps facile à obtenir pur.

a) *Synthèse du méthylglucoside β* . — Les eaux mères provenant de la cristallisation du rhamnose sont évaporées à sec. L'extrait est dissous dans 50 cm³ d'alcool méthylique à 70°. Sur la solution filtrée on détermine la déviation polarimétrique, puis on dose les sucres réducteur ($\alpha = + 1^{\circ} 24'$. Sucre réducteur = 1 g, 468 pour 50 cm³). La solution est alors additionnée de 0 g, 25 d'émulsine et elle est agitée lentement à la roue hydraulique. On suit l'action de l'émulsine

par des lectures polarimétriques. Au bout de quelques jours, on observe un fort retour de la déviation vers la gauche. Au bout de cinq semaines, l'action de l'émulsine est terminée. Nous avons dosé les sucres réducteurs et déterminé la déviation polarimétrique ($\alpha_D^{20} = -48'$ Sucre réducteur = 0 g, 0866, pour 50 cm³).

L'émulsine a donc provoqué la synthèse du méthylglucoside β .

b) *Extraction du méthylglucoside β .* — Nous avons procédé à l'extraction du méthylglucoside formé dans l'essai précédent. Le liquide alcoolique filtré pour le débarrasser de l'émulsine est évaporé à sec sous pression réduite. Le résidu jaunâtre, dissous dans l'eau distillée est additionné d'un lait de chaux et après agitation, d'alcool à 95°, en quantité calculée de façon à avoir un titre alcoolique de 80°. Le glucose libre forme un glucosate de calcium insoluble dans l'alcool à 80°. Après 24 heures, le liquide est filtré, puis il est évaporé à sec. Le résidu repris par l'éther acétique contenant 10 pour 100 d'alcool à 95° donne par refroidissement des cristaux de méthylglucoside. D'autres opérations conduites de la même façon nous ont permis d'obtenir 1 g, 20 de produit que nous avons identifié au méthylglucoside par ses constantes physiques.

c) *Identification du méthylglucoside β .* — Au microscope, il se présente sous forme de lamelles. Sa saveur est d'abord sucrée puis légèrement amère.

1) Le point de fusion pris au bloc Maquenne est de + 104° — 106°;

2) Le pouvoir rotatoire déterminé en solution aqueuse est de :

$$[\alpha]_D = -31^{\circ},75 \text{ (v = 10 cm; p = 0 g. 1891; l = 2; } \alpha = -1^{\circ}12')$$

Le corps ainsi obtenu est donc bien du méthylglucoside β . Par hydrolyse acide, le buddléoflavonolose donne donc, outre le rhamnose que nous avons déjà étudié, du glucose que nous avons identifié par la formation de méthylglucoside.

Le rhamnose et le glucose existent dans le buddléoflavonolose en proportion équimoléculaire : en effet, le pouvoir rotatoire du mélange des sucres obtenus par hydrolyse a été trouvé voisin de $+ 35^{\circ},5$. Le pouvoir rotatoire théorique d'un tel mélange est voisin de $+ 34^{\circ}$.

B) PRODUIT D'HYDROLYSE NON GLUCIDIQUE (BUDDLÉOFLAVONOL).

Nous avons vu dans l'étude de l'hydrolyse acide que le produit non glucidique se dépose quantitativement au cours de l'hydrolyse. Ce produit est recueilli, il est déjà très pur, mais pour le priver des traces d'hétéroside inattaqué, nous effectuons la purification suivante :

Purification. — On purifie successivement le produit brut dans l'acétone et dans l'acide acétique cristallisable. L'acétone anhydre dissout facilement le produit non glucidique et ne dissout pas le buddléoflavonolose. 1 gr. d'aglycone est dissous dans 200 cm³ d'acétone au bain-marie bouillant. Le liquide, encore tiède, est filtré. L'acétone est distillé et l'extrait se prend en masses cristallines que l'on redissout dans l'acide acétique pur. Le liquide se prend en une masse de

cristaux jaunes, par refroidissement. On recueille, on lave à l'acide acétique, puis à l'eau. Le produit pur est alors séché dans le vide sulfurique. 1 g, de produit brut fournit 0 g, 82 de produit pur. C'est le buddléoflavonol.

Propriétés physiques. — Le buddléoflavonol se présente sous forme de cristaux jaunes, brillants, constitués au microscope par de très belles aiguilles à base rectangle.

Il fond nettement au bloc Maquenne à + 265°.

Il ne possède aucune saveur. Il est très stable à l'air.

Par dessiccation dans le vide à + 60° — 65° dans l'appareil de Bouillot le buddléoflavonol ne perd pas de poids.

En solution acétique, il est inactif sur la lumière polarisée. Il est très peu soluble dans l'eau, l'éther, l'éther acétique, le benzène, l'alcool et l'alcool absolu, etc... Il est soluble dans l'acétone, dans l'acide acétique pur, dans le tétrachlorure de carbone, moins soluble dans l'acide acétique dilué.

Propriétés chimiques. — L'acide sulfurique et l'acide chlorhydrique concentrés ou dilués le dissolvent facilement en prenant une coloration jaune s'avivant par le chauffage. L'acide nitrique concentré le dissout légèrement à froid, en se colorant en jaune. A chaud, la coloration passe au rouge brun. Il est très soluble dans les solutions de potasse, de soude, de carbonate et de bicarbonate de sodium en donnant une coloration jaune. Il est moins soluble dans l'ammoniaque.

Le buddléoflavonol réduit légèrement la liqueur cupro-alcaline.

Son pouvoir réducteur a été déterminé par la méthode de M. G. Bertrand sur 0 g, 1766 — 1 gramme de buddléoflavonol réduit comme 0 g, 0279 de glucose.

Une solution de buddléoflavonol dans l'acide acétique ou dans le tétrachlorure de carbone :

1° Donne une coloration rouge foncée avec le réactif de Liebermann ;

2° Se colore en vert brun sous l'action du perchlorure de fer dilué ;

Le buddléoflavonol renferme donc probablement une ou plusieurs fonctions phénoliques libres.

3° Décolore les solutions diluées de permanganate de potasse et de brome ;

4° Si on ajoute 2 cm³ de sulfate mercurique acide à une solution de buddléoflavonol dans le tétrachlorure de carbone, il se produit un trouble jaunâtre qui augmente et fait place, après quelques minutes, à un dépôt amorphe, abondant ;

5° Dissous dans une solution diluée de potasse, le buddléoflavonol donne par addition de quelques gouttes d'une solution d'iode, une odeur caractéristique d'iodoforme. Celui-ci ne tarde pas à se déposer dans le fond du tube.

Ces deux dernières réactions nous amènent à penser que la molécule du buddléoflavonol renferme un groupe cétonique de forme R. CO. CH³.

CHAPITRE IV

Formule brute du Buddléoflavonoloside

Composition élémentaire et centésimale du Buddléoflavonoloside

Nous avons montré que l'hydrolyse acide du buddléoflavonoloside donne naissance à un produit non glucidique, le buddléoflavonol, qui forme 49,87 p. 100 de l'hétéroside et un mélange de glucides dans la proportion de 53,72 p. 100. Ces glucides sont formés de glucose et de rhamnose. Nous avons tenté d'établir la formule du buddléoflavonol et partant celle du buddléoflavonoloside, puisqu'elles ne diffèrent entre elles que par l'addition des deux oses que nous avons identifiés.

Analyse élémentaire et composition centésimale du Buddléoflavonol

Le buddléoflavonol chauffé sur une lame de platine, fond, charbonne et brûle sans laisser de résidu. La recherche de l'azote est négative; c'est donc un corps ternaire. Les combustions du buddléoflavonol ont été effectuées sur le produit desséché à $+ 60^{\circ}$ — 65° dans l'appareil de Bouillot de façon

à le priver de toute trace de dissolvant. Les résultats sont les suivants :

	Poids de buddléoflavonol	H ² O	CO ²	H. p. 100	C. p.100
1.	0,1692	0,0697	0,4096	4,57	66,01
2.	0,1450	0,0595	0,3529	4,55	66,33

Poids moléculaire du buddléoflavonol

La solubilité du buddléoflavonol dans l'eau et dans l'acide acétique pur est très faible. Il nous a été impossible d'effectuer des cryoscopies dans ces solvants. Le buddléoflavonol possède un groupement méthoxyle O—CH³, aussi avons-nous pu déterminer le poids moléculaire par dosage du groupe méthoxyle, selon la méthode de Zeisel. Voici les résultats obtenus :

	Poids du buddléoflavonol	Iodure d'argent	Méthoxyle p 100
1.	0,2006	0,1505	9,91
2.	0,2002	0,1444	9,53

$$\text{Poids moléculaire} = \frac{31 + 100}{99,72} = 319$$

Formule du buddléoflavonol

En s'appuyant sur les données précédentes, nous proposons pour le buddléoflavonol la formule C₁₈ H₁₄ O₆.

	Trouvé	Calculé pour C ₁₈ H ₁₄ O ₆
Poids moléculaire	319	326
C. p. 100	66,17	66,26
H. p. 100	4,56	4,29
O—CH ³ p. 100	9,72	9,51

Analyse élémentaire et composition centésimale du Buddléoflavonoside

La recherche de l'azote a été également négative. L'échantillon destiné aux combustions, a été soigneusement desséché à poids constant dans l'appareil de Bouillot, puis laissé à l'air, à l'abri des poussières, pendant quelques jours jusqu'à ce qu'il ne présente plus d'un jour à l'autre que des variations de poids sans importance. Le buddléofalvonoside a repris ainsi 3,90 p. 100 d'eau, dont nous avons tenu compte dans les calculs. Les combustions ont donné les résultats suivants :

	Poids du buddléoflavonoside	H ² O	CO ²	Hp.100	C p. 100
	—	—	—	—	—
1.	0,1668	0,0845	0,3444	5,63	56,30
2.	0,1453	0,0744	0,3013	5,69	56,50
3.	0,1814	0,0907	0,8738	5,56	56,25

Poids moléculaire du Buddléoflavonoside

1° Nous avons également dosé le groupe méthoxyle du buddléoflavonoside.

Poids de substance	AgI	Méthoxyle p. 100
0 gr. 3367	0 gr. 1251	4,90

$$P. M. = \frac{31 + 100}{4,906} = 632$$

2° Nous avons vu que l'hydrolyse acide donne 53,72 p. 100 de sucre réducteur formé d'un mélange de glucose et de rhamnose. Il nous est possible de calculer le poids moléculaire en nous basant sur ces déterminations. Un mélange équi-

moléculaire de glucose et de rhamnose possède un poids moléculaire de 344. Le poids moléculaire du buddléoflavonoside sera de :

$$\frac{344 \times 100}{53,72} = 640$$

en admettant (ce que le dosage de méthoxyle effectué sur le buddléoflavonoside nous permet d'affirmer) qu'il n'y ait qu'une seule molécule de rhamnose, et de glucose dans la molécule de l'hétéroside.

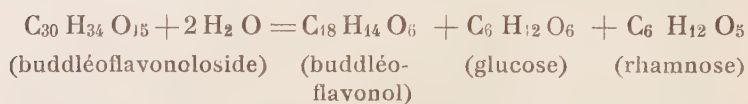
Formule du buddléoflavonoside

En se basant sur ces données, nous proposons la formule $C_{30} H_{34} O_{15}$

	Trouvé	Calculé pour $C_{30} H_{34} O_{15}$
Poids moléculaire	640	634
H. p. 100	5,63	5,36
C. p. 100	56,35	56,78
Sucre réducteur p. 100 ..	53,72	54,25
Buddléoflavonol p. 100 ..	49,87	51,41
Méthoxyle p. 100	4,91	4,88

Nous voyons par l'examen de ce tableau que la quantité de sucre réducteur obtenue est un peu plus faible que la quantité théorique. Ceci est dû à ce que le rhamnose ne réduit pas exactement comme le glucose, les résultats de dosage étant exprimés en glucose. La quantité de buddléflavo-

nol formée par hydrolyse est aussi un peu faible, le buddléo-flavonol n'étant pas absolument insoluble dans l'eau sulfurique. L'équation de l'hydrolyse est la suivante :



CHAPITRE V

Constitution chimique du Buddléoflavonoloside

Les réactions chimiques et les propriétés physiques du buddléoflavonoloside nous ont amenés à penser que cet hétéroside pouvait se ranger dans la classe des flavones. Les analyses que nous avons effectuées permettent d'assigner au buddléoflavonol la formule $C_{18} H_{14} O_6$ ou $C_{17} H_{11} O_4 - OCH_3$;

Cette formule est voisine de celle du rhamnétol :



La constitution du rhamnétol est bien connue. Par fusion alcaline, il donne un composé phénolique, le méthyl phloroglucinol, un acide phénol, l'acide protocatéchique et un acide aliphatique, l'acide glycolique. On sait que la plupart des produits flavoniques, sous l'action de la fusion alcaline donnent un composé phénolique et un acide phénol. Ainsi :

le Chrysol	$C_{15} H_{10} O_4$	donne phloroglucinol + acide benzoïque
le Quercétol ..	$C_{15} H_{10} O_7$	» » + » protocatéchique
le Fisétol	$C_{15} H_{10} O_6$	» résorcinol + » »
le Rhamnétol ..	$C_{16} H_{12} O_7$	» méthylphlor. + » »
le Lutéol	$C_{15} H_{10} O_6$	» phloroglucinol + » »
le Morol	$C_{15} H_{10} O_7$	» » + » résorcilique
l'Apigénol	$C_{15} H_{10} O_5$	» » + » protocatéchique
le Rhamnazol ..	$C_{17} H_{14} O_7$	» » + » »
le Kaempférol ..	$C_{15} H_{10} O_7$	» » + » p. oxybenzoïque

Nous avons voulu voir si le buddléoflavonol est décomposé comme les corps flavoniques par les alcalis. Nous sommes arrivés à isoler par l'action des alcalis sur le buddléoflavonol, du phloroglucinol, et un acide que nous avons identifié en toute certitude à l'acide anisique ou acide p — méthoxybenzoïque. Nous avons également caractérisé l'acétone parmi les produits de décomposition.

PREMIÈRE EXPÉRIENCE. — Nous avons d'abord fait agir l'hydrate de baryte en solution aqueuse très concentrée sur le buddléoflavonol suivant le mode opératoire donné par M. Bougault (12).

L'attaque barytique s'est montrée insuffisante à scinder la molécule du buddléoflavonol.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE. — Nous avons utilisé la méthode de fusion alcaline indiquée par MM. Hlasiwetz et Pfaundler (34) pour l'étude du quercétol et par M. Smorawski pour le rhamnétol (39).

Fusion alcaline :

Buddléoflavonol	0 g, 50
Potasse	0 g, 50
Eau distillée	2 cm ³

On mélange dans un creuset d'argent et on chauffe sur une petite flamme, jusqu'à obtention d'un mélange jaune et sec. Le résidu est dissous dans l'eau distillée, acidifié par l'acide chlorhydrique à 10 p. 100, puis agité à l'éther. Celui-ci s'empare de la plus grande partie des principes formés par la fusion alcaline. La solution aqueuse inférieure reste cependant colorée en jaune par des résines.

La solution étherée est distillée à sec. Le résidu est repris par 40 cm³ d'eau distillée. On ajoute une pincée de carbonate de calcium ou de carbonate acide de sodium, on fait bouillir et on filtre. Le filtrat, encore tiède, est agité à l'éther. Les corps à fonction acide sont passés au cours de cette opération à l'état de sels de calcium ou de sodium. Les corps à fonction phénolique ne sont pas salifiés et passent seuls dans l'éther.

A) *EXTRACTION ET IDENTIFICATION DU PHLOROGLUCINOL.* — La solution étherée ainsi obtenue est distillée à sec. Le résidu repris par de l'eau bouillante est décoloré au noir animal, filtré, puis concentré à un petit volume. Par refroidissement, il se dépose de fins cristaux que l'on recueille et que l'on sèche. Ils sont très solubles dans l'eau. C'est du phloroglucinol, ainsi que le montrent les propriétés suivantes :

1° Une petite quantité de produit additionnée de 2 cm³ de chloroforme, une goutte d'alcool, une pastille de potasse colore la pastille en rose ;

2° Avec le réactif de Liebermann, ce produit se colore en rose foncé ;

3° La solution aqueuse de ce produit colore en rouge violet le perchlorure de fer dilué ;

4° Ce produit dissous dans 2 cm³ d'eau, puis traité par 2 cm³ de nitrate de sodium à 1 p. 100 et 2 cm³ d'acétate d'aniline donne naissance à un dépôt rouge cinabre de benzène-azo-phloroglucinol ;

5° Au bloc Maquenne, il fond à + 219° — 221°. Comparé avec le phloroglucinol obtenu par dédoublement du phlorétol, ce produit s'y est montré absolument identique. Le

buddléoflavonol comme le quercétol donne du phloroglucinol par fusion alcaline.

B) *EXTRACTION DE L'ACIDE A IDENTIFIER.* —

La liqueur, débarrassée du corps phénolique ainsi que nous l'avons vu, est acidifiée par l'acide chlorhydrique à 10 p. 100. Il se forme un trouble laiteux que l'on dissout par agitation à l'éther. Les solutions éthérées évaporées à sec abandonnent un produit cristallisé. Celui-ci est repris par l'eau à l'ébullition et additionné de noir animal. On filtre bouillant. Le liquide aqueux concentré abandonne des cristaux en aiguilles. Après dessiccation, on les dissout dans l'ammoniaque diluée; on distille pour chasser l'excès d'ammoniaque, on décolore au noir animal et on concentre. Le liquide encore chaud est acidifié par l'acide nitrique dilué. Il se forme alors des cristaux que l'on recueille et que l'on sèche. Le point de fusion de ce produit est de $+ 185^{\circ}$. Il se sublime dès 165° . Il forme des cristaux en aiguilles d'un blanc de neige. Il rougit le tournesol et fait effervescence avec une solution de bicarbonate de sodium. Il est peu soluble dans l'eau froide, plus soluble dans l'eau chaude, très soluble dans l'éther, l'alcool et les solutions alcalines.

Analyse élémentaire de l'acide à identifier

Nous avons effectué l'analyse de ce produit :

Poids du corps : 0 g, 1156 $\text{H}^2\text{O} = 0,0568$ $\text{CO}^2 = 0,2659$
H p. 100 = 5,46 C p. 100 = 62,76

Poids moléculaire

1° Il est déterminé par alcalimétrie en utilisant les propriétés acides du produit étudié. On dissout 0 g, 1031 de

produit dans 15 cm³ d'alcool neutralisé. On titre à la soude 1/10 normale en présence de phénolphtaléine. Le virage est très net. On emploie 0 g, 274 de soude pour 0 g, 1031 de produit. On en déduit le poids moléculaire (en admettant qu'il n'y ait qu'une seule fonction acide).

$$\text{Poids moléculaire : } \frac{0,1031 \times 40}{0,0274} = 150$$

2° Dosage de méthoxyle	Poids de substance	AgI	Méthoxyle p. 100
	0 g. 0953	0,1480	20,51
P. M. trouvé : 151.			

Formule

En s'appuyant sur ces résultats nous proposons pour ce produit la formule C₈ H₈ O₃

	Trouvé	Calculé pour C ₈ H ₈ O ₃
Poids moléculaire	150	152
H p. 100	5,46	5,26
C p. 100	62,76	63,15
OCH ³	20,51	20,40

D'après la teneur en méthoxyle et en groupement acide, le corps obtenu ne peut être qu'un acide méthoxybenzoïque. Il nous restait à déterminer la position des groupements dans le noyau. Nous avons identifié cet acide p-méthoxybenzoïque ou acide anisique.

Identification de l'acide obtenu avec l'acide anisique

On sait que cet acide peut s'obtenir par oxydation de l'anéthol contenu dans l'essence d'anis. Dans le but de le

comparer à l'acide dérivé du buddléoflavonol nous l'en avons retiré selon le procédé indiqué par Laurent (35a, 35b) et Cahours (25).

On place 60 cm³ d'acide nitrique ordinaire dans un ballon muni d'un réfrigérant à reflux. On chauffe au bain de sable jusqu'à ébullition puis on verse 20 cm³ d'essence d'anis goutte à goutte (ce qui nécessite environ une heure). La réaction est extrêmement brutale. Le liquide est chauffé encore une demi heure. Après refroidissement, il se forme une masse solide résineuse, cristallisée. On la filtre et on lave. On traite cette masse par l'ammoniaque au demi qui dissout les cristaux en laissant les matières résineuses insolubles. La solution ammoniacale est évaporée sous pression réduite de façon à chasser l'ammoniaque, sans pousser trop loin pour cela l'évaporation qui risquerait, en effet, de décomposer l'anisate d'ammoniaque. Le résidu est repris par l'eau bouillante, décoloré au noir animal. Le liquide est filtré et concentré, il abandonne des cristaux d'anisate d'ammoniaque que l'on recueille. On les dissout dans l'eau bouillante par addition d'acide nitrique à la liqueur chaude. On déplace l'acide anisique, qui cristallise par refroidissement. Il est purifié par cristallisation dans l'eau. On obtient des cristaux blancs dont le point de fusion est de + 185°. Un mélange de l'acide retiré du buddléoflavonol et de l'acide anisique fond également à + 185°. L'acide anisique et l'acide retiré du buddléoflavonol possèdent les mêmes propriétés chimiques. En dehors du phloroglucinol, la fusion alcaline du buddléoflavonol donne naissance à de l'acide anisique.

Enfin, nous avons pu caractériser l'acétone comme troisième produit de dédoublement du buddléoflavonol.

Recherche de l'acétone

Nous avons vu plus haut (v. p. 48) que certaines réactions nous indiquent que le buddléoflavonol renferme dans sa molécule une fonction cétonique. Nous avons voulu nous assurer que le buddléoflavonol au cours de la fusion alcaline, donne naissance à de l'acétone. Pour cela nous avons employé le procédé suivant :

Buddléoflavonol	0 g, 50
Potasse	2 g,
Eau	10 cm ³

On chauffe le mélange dans un ballon muni d'un réfrigérant à reflux au bain de sable pendant deux heures. Le liquide est acidifié par l'acide sulfurique à 10 p. 100. Le mélange insoluble (acide anisique et phloroglucinol) est recueilli par filtration. Le filtrat est distillé. On recueille 20 cm³ de distillat sur lesquels nous avons effectué les réactions suivantes : comparativement avec une solution étendue d'acétone.

1° En chauffant au bain-marie bouillant pendant dix minutes la solution avec un égal volume de solution de sulfate acide mercurique, nous avons obtenu un dépôt amorphe. C'est le précipité mercurico-acétonique (29).

2° On mélange 2 cm³ de lessive de soude au dixième, 5 cm³ de solution à essayer et 2 cm³ de solution d'iode au dixième. On perçoit immédiatement l'odeur d'iodoforme. Le liquide se trouble ; par agitation à l'éther, le liquide redevient limpide. L'éther évaporé abandonne des cristaux d'iodoforme. Cette réaction est commune à l'acétone et à l'alcool. La réaction suivante les différencie.

3° Si on ajoute quelques gouttes d'une solution d'iode

dans l'iodure de potassium à 5 cm³ de la solution essayée puis de l'ammoniaque étendue, il se produit un précipité brun d'iodure d'azote qui se décolore et se transforme rapidement en un trouble jaune à odeur d'iodoforme. Dans les mêmes conditions l'alcool ordinaire ne se décolore que très lentement.

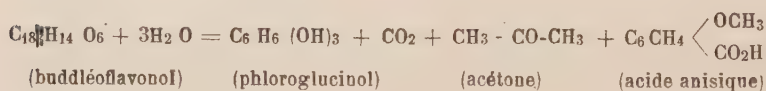
4° Avec la vanilline et l'acide chlorhydrique concentré la solution donne d'abord une coloration rouge qui devient jaune vert par chauffage pour revenir au rouge par refroidissement.

5° Sur une plaque de verre, on place un large cristalliseur contenant le liquide à analyser légèrement acidifié. On place sur ce cristalliseur une capsule contenant 10 cm³ de réactif de Nessler. On recouvre le tout d'une cloche. Au bout d'une heure, il se forme dans le réactif, un trouble suivi d'un précipité jaunâtre caractéristique (13).

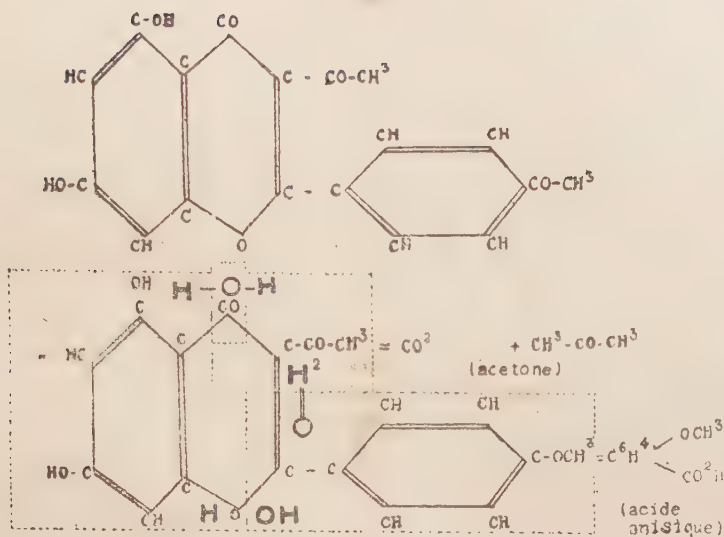
Cette réaction est spécifique de l'acétone.

Toutes ces réactions caractérisent sûrement l'acétone.

Le buddléoflavonol se décompose donc selon l'équation suivante :

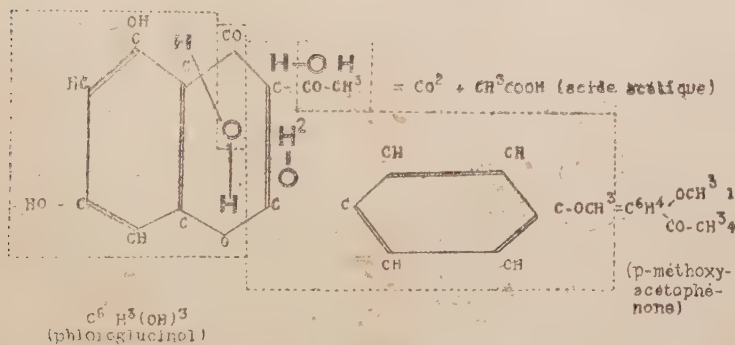


Le schéma suivant, semblable à celui de nombreux autres flavonols, rend compte du dédoublement obtenu par fusion alcaline. Il comporte le noyau fondamental de la benzo- γ -pyrone.



C₆H₃(OH)³
(phloroglucinol)

Cette formule développée s'accorde également avec un fait que nous avons observé. Si nous effectuons une fusion alcaline très brutale à haute température, on perçoit une odeur suave et forte. Nous l'avons identifiée sans peine à celle de la p-méthoxy-acétophénone préparée à partir du picéol. Le deuxième schéma de dédoublement observé d'ailleurs pour de nombreux autres flavonols rend nettement compte de ce dédoublement.



C₆H₃(OH)³
(phloroglucinol)

Formule du buddléoflavonoside

La formule du buddléoflavonol étant établie, il reste encore à déterminer la position des deux sucres, glucose et rhamnose dans la molécule. Plusieurs hypothèses sont à considérer.

1° Le buddléoflavonol possédant 2 OH libre, dans son noyau phloroglucique, le glucose et le rhamnose peuvent être fixés séparément sur chaque OH —. Cela est peu probable. car l'émulsine ou la rhamnodiastase pourraient enlever le glucose à la molécule. Or, ces ferments sont sans action.

2° Le glucose et le rhamnose peuvent former un bioside relié au buddléoflavonol par une fonction phénol du groupe phloroglucique. C'est l'hypothèse la plus vraisemblable. 2 cas sont à envisager :

a) Ou bien le bioside est un rhamnoglucose, il serait alors identique au rutinose. La liaison avec le buddléoflavonol aurait lieu par le groupement aldéhydique du glucose. Or, C. Charaux (27) a montré que le rutoside, hétéroside flavonique très voisin du buddléoflavonoside se dédoublant en glucose, rhamnose et quercétol, est très facilement scindé par la rhamnodiastase en donnant un bioside, le rutinose et du quercétol. Par analogie, si le bioside du buddléoflavonoside était du rutinose, il devrait être hydrolysé par la rhamnodiastase, ce que nous n'avons pu observer, même après une action de plusieurs mois.

b) Ou bien le bioside est un gluco-rhamnose encore inconnu. La liaison avec le buddléoflavonol ayant lieu par la fonction aldéhydique du rhamnose. Nous ne connaissons pas

de ferment hydrolysant les rhamnosides. Cette hypothèse expliquerait la résistance du buddléoflavonoside à tous les agents fermentaires habituellement employés. Elle est probablement la bonne. Nous effectuons, d'ailleurs, des recherches pour en prouver le bien-fondé.

TROISIEME PARTIE

Etude du Buddléoside

CHAPITRE PREMIER

Préparation et Purification du Buddléoside

Au cours des essais biochimiques, nous avons démontré qu'il existe, à côté d'un hétéroside hydrolysable par l'émulsine en donnant un produit noir insoluble, un autre hétéroside réducteur, lévogyre, précipitable par l'extrait de Saturne, hydrolysable par l'acide sulfurique dilué à l'ébullition, mais non par l'émulsine. Nous avons donné le nom de *buddléoside* à ce produit; nous avons pu l'étudier grâce à deux propriétés spécifiques : sa solubilité dans l'acétone anhydre et sa précipitation par les sels de plomb.

Préparation

Le liquide aqueux d'épuisement, correspondant à 1 kilo de feuilles, privé du buddléoflavonoside ainsi que nous l'avons vu plus haut (v. p. 25) est distillé à sec

et repris à l'ébullition par 50 cm³ d'alcool à 95°, quantité juste nécessaire pour dissoudre entièrement l'extrait. On ajoute alors 200 cm³ d'acétone anhydre. Il se forme un abondant précipité. On abandonne pendant deux jours au frais pour que la sédimentation soit complète. Le liquide surnageant est alors décanté. Il possède une couleur jaune d'or. Evaporé à sec, il abandonne un extrait pulvérulent que l'on reprend par 50 cm³ d'acétone anhydre. Le produit est presque complètement dissous. On filtre. Le liquide acétonique, distillé à sec, donne un produit poreux que l'on pulvérise facilement. Le pouvoir rotatoire de ce produit est de :

$$[\alpha]_D = -52^{\circ},02 \quad (\eta = 10; \quad l = 2; \quad p = 0,2172; \quad \alpha = -2^{\circ}10')$$

Une autre préparation effectuée de façon un peu différente, nous a donné un produit identique, de pouvoir rotatoire :

$$[\alpha]_D = -51^{\circ},82 \quad (\eta = 10; \quad l = 2; \quad p = 0,1834; \quad \alpha = -54')$$

Le rendement est voisin de 15 grammes par kilogramme de feuilles fraîches. Nous verrons plus loin que ce produit est amorphe, et que son point de fusion manque de netteté. Pour en démontrer, cependant, la pureté, nous avons fait l'expérience suivante :

Le produit obtenu est très soluble dans l'eau. En solution aqueuse, il est précipité par le sous-acétate de plomb.

Nous avons alors effectué une précipitation fractionnée par l'extrait de Saturne.

15 grammes de produit sont dissous dans 200 cm³ d'eau ; on ajoute alors 5 cm³ d'extrait de Saturne. Le précipité formé est recueilli, lavé par deux décantations. On élimine le plomb du précipité par un courant d'hydrogène sulfuré. On filtre et

évapore à sec le filtrat dans le vide à 50°. L'extrait est repris par l'acétone anhydre et le liquide acétonique placé dans une cloche à vide sur de l'acide sulfurique. On obtient ainsi un gâteau poreux que l'on pulvérise facilement. On détermine le pouvoir rotatoire de la poudre ainsi obtenue.

Dans le filtrat privé d'une partie du produit par le plomb, on ajoute à nouveau 5 cm³ d'extrait de Saturne qui détermine la formation d'un nouveau précipité : on le traite comme le précédent. Nous avons ainsi préparé neuf portions dont les pouvoirs rotatoires sont les suivants :

- 1° $[\alpha]_D = -51^{\circ},68$ ($v = 10$; $l = 2$; $p = 0,1935$; $\alpha = -2'$)
- 2° $[\alpha]_D = -51^{\circ},72$ ($v = 10$; $l = 2$; $p = 0,1866$; $\alpha = -1^{\circ}56'$)
- 3° $[\alpha]_D = -51^{\circ},84$ ($v = 10$; $l = 2$; $p = 0,1863$; $\alpha = -1^{\circ}56'$)
- 4° $[\alpha]_D = -51^{\circ},70$ ($v = 10$; $l = 2$; $p = 0,1886$; $\alpha = -1^{\circ}57'$)
- 5° $[\alpha]_D = -52^{\circ},22$ ($v = 10$; $l = 2$; $p = 0,1848$; $\alpha = -1^{\circ}56'$)
- 6° $[\alpha]_D = -52^{\circ},02$ ($v = 10$; $l = 2$; $p = 0,1922$; $\alpha = -2^{\circ}$)
- 7° $[\alpha]_D = -51^{\circ},80$ ($v = 10$; $l = 2$; $p = 0,1882$; $\alpha = -1^{\circ}57'$)
- 8° $[\alpha]_D = -52^{\circ},04$ ($v = 10$; $l = 2$; $p = 0,1874$; $\alpha = -1^{\circ}57'$)
- 9° $[\alpha]_D = -51^{\circ},87$ ($v = 10$; $l = 2$; $p = 0,1861$; $\alpha = -1^{\circ}56'$)

La constance du pouvoir rotatoire est remarquable. Nous sommes donc autorisés à considérer le produit extrait par le procédé donné plus haut comme un produit à peu près pur. Nous lui avons donné le nom de Buddléoside. D'ailleurs, dans une autre préparation, nous avons remplacé comme agent précipitant, l'acétone par l'éther acétique anhydre. Nous avons obtenu un produit semblable possédant un pouvoir rotatoire identique.

CHAPITRE II

Propriétés du Buddléoside

1° PROPRIÉTÉS PHYSIQUES

Il est amorphe. Cependant par évaporation lente d'une solution acétonique, on obtient des amas cristallins. Il est incolore et inodore. Sa saveur est amère et brûlante. Son point de fusion manque de netteté.

Il se décompose par le chauffage, il noircit d'abord puis fournit une masse gommeuse.

Il est extrêmement soluble dans l'eau, l'alcool éthylique, l'alcool méthylique, l'éther acétique et l'acétone. Il est insoluble dans l'éther, le benzène et le chloroforme.

Il est lévogyre. Son pouvoir rotatoire déterminé en solution aqueuse pour le produit anhydre est de : $[\alpha]_D^{20} = -52.02$ ($v = 10 \text{ cm}^3$; $l = 2$; $p = 0.92172$; $\tau = -2.16^\circ$).

Stabilité à l'air. — Le buddléoside paraît se conserver à l'air sans altération : il reste pulvérulent et ne change nullement d'aspect. Mais il n'est pas stable, en ce sens qu'il augmente ou diminue de poids suivant l'état hygrométrique de l'air.

Maintenu dans le vide sulfurique, il perd très rapidement de l'eau. En un jour cette perte s'est élevée à 6,17 p. 100, en trois jours à 6,68 p. 100, en quatre jours à 6,71 p. 100, le poids devient alors constant.

Si nous mettons à l'air l'échantillon desséché plus haut, nous voyons que :

Après 1 heure à l'air, il reprend : 1,14 p. 100 d'eau ;

2	—	—	1,96	—	—
6	—	—	2,13	—	—
1 jour	—	—	6,78	—	—
3	—	—	8,88	—	—
4	—	—	9,41	—	—
5	—	—	8,69	—	—
8	—	—	8,73	—	—

La quantité d'eau absorbée est donc variable avec l'état hygrométrique de l'air.

Pour la détermination des constantes physiques et chimiques, nous avons utilisé, non pas le buddléoside anhydre d'une manipulation difficile à cause de l'absorption rapide d'eau, mais un produit séché dans le vide sulfurique à poids constant, que nous avons laissé à l'air huit jours et qui a été enfermé ensuite dans un flacon sec et bien bouché. On en détermine la teneur en eau.

2° PROPRIÉTÉS CHIMIQUES

Le buddléoside possède une fonction acide libre, puisqu'il rougit le tournesol bleu et provoque le dégagement de gaz carbonique quand on le met en présence d'une solution saturée de bicarbonate de sodium. Il possède également une

fonction phénolique libre : il colore, en effet, en rouge, le réactif de Liebermann et il donne avec le perchlorure de fer une coloration vert foncé intense.

Il se dissout dans les solutions alcalines en donnant une coloration jaune. Il donne avec les acides minéraux concentrés des colorations variables : jaune rouge avec l'acide chlorhydrique ; rouge violet avec l'acide sulfurique et rouge avec l'acide nitrique. Avec les acides minéraux dilués, à froid, on n'observe pas de coloration, en chauffant au bain-marie, il se développe d'abord une coloration bleue, passant au rouge. Il est moins soluble dans l'acide acétique et la coloration jaune est peu intense.

La solution aqueuse de cet hétéroside n'est pas précipitée par le chlorure de cuivre, le chlorure de mercure, le chlorure de magnésium. Elle est précipitée par : l'acétate neutre et basique de plomb, le chlorure de baryum et l'eau de baryte. Le précipité est jaune brun. Le chlorure de calcium donne un trouble sans précipité appréciable.

Pouvoir réducteur du Buddléoside. — Le pouvoir réducteur de buddléoside a été déterminé par la méthode de M. G. Bertrand : sur un même échantillon on trouve des résultats différents selon les conditions de chauffe et de concentration. Aussi nous avons trouvé :

Poids de substance	Sucre réducteur (en g. de glucose)	Sucre réducteur (p. 100)
A. 0 gr. 1021	0,0130	12,73 p. 100
B. 0 gr. 0941	0,0229	24,38 »
C. 0 gr. 0952	0,0243	25,50 »
D. 0 gr. 1161	0,0301	26,31 »
1. 0 gr. 2524	0,0791	31,34 »
2. 0 gr. 2524	0,0722	28,60 »
3. 0 gr. 2894	0,0891	30,80 »
4. 0 gr. 0585	0,0130	22,21 »

Les chiffres trouvés varient avec la prise d'essai, d'une part, et, d'autre part, avec les modalités de la chauffe.

Le Buddléoside est hydrolysé par l'acide sulfurique, mais non par l'émulsine ou le suc digestif d'escargot.

A) HYDROLYSE PAR LES ACIDES. — Nous avons essayé l'hydrolyse du buddléoside par l'acide acétique à 10 p. 100, l'acide sulfurique à 3 p. 100 et à 1 p. 100 en tube scellé dans l'autoclave à + 140° et 2 atmosphères 5. On note la déviation et on dose le sucre réducteur formé.

Acides	Poids de substance	α initial (1=2)	α après action de l'acide				S.R. p. 100
			1 h.	2 h.	3 h.	4 h.	
CH ³ COOH à 10 p. 100	0 g. 2097	— 1° 16'	— 40'		20'	0	48,59
H ² SO ⁴ à 3 p. 100	0 g. 1904	— 56'	+ 4'	+ 4'			64,80
H ² SO ⁴ à 1 p. 100	0 g. 1972	— 1°	+ 4'	+ 4'			67,03

A haute température, l'acide sulfurique plus concentré pourrait détruire les produits d'hydrolyse.

Hydrolyse par l'acide sulfurique à 3 p. 100. — On dissout 0 g, 2523 de buddléoside dans l'eau distillée et on calibre à 20 cm³. Le liquide est divisé en deux tubes, chacun contenant 10 cm³ de solution de buddléoside; on ajoute 10 cm³ d'acide sulfurique à 6 p. 100. On chauffe au bain-marie bouillant. Au cours de l'hydrolyse, le liquide devient d'abord bleu, puis jaune. Au bout de trois heures, on enlève le premier tube, au bout de quatre heures, on enlève l'autre; les liquides sont agités à l'éther trois ou quatre fois pour éli-

miner le produit non glucidique d'hydrolyse. Enfin, on calibre les liquides à 50 cm³ et on détermine la déviation et le sucre réducteur.

- 1° après 3 h. de chauffe $\alpha = + 8'$ sucre réducteur = 71,68 %
 2° » 4 h. » $\alpha = + 9'$ » = 72,46 %

Au bout de quatre heures l'hydrolyse semble donc complète.

Le buddléoside est nettement hydrolysé par l'acide sulfurique dilué à 100°. La quantité de sucre réducteur exprimé en glucose semble voisine de 72 p. 100, quand on a privé le liquide du produit non glucidique d'hydrolyse.

B) HYDROLYSE DIASTASIQUE.

1° Essais de l'hydrolyse par le suc digestif d'escargot :

On mélange :

Buddléoside	0 g, 50	} + 2 cm ³ de toluène
Eau distillée	100 cm ³	
Suc digestif d'escargot ..	2 cm ³	

dans un flacon bien bouché et on met à l'étuve à + 30°. Après quelques heures, le liquide limpide commence à se troubler. Le lendemain, on trouve un dépôt au fond du flacon. Ce dépôt n'est pas le produit non glucidique de dédoublement. Le liquide surnageant devient rouge. On ne peut déféquer le liquide par le sous-acétate de plomb puisqu'il se combine avec l'hétéroside en le précipitant. On ne peut le décolorer au noir animal. La lecture de la déviation polarimétrique est donc impossible. Le seul moyen permettant de constater l'hydrolyse est le dosage de sucre réducteur. Les résul-

tats suivants sont ramenés au volume de la solution primitive de l'hétéroside.

Durée de l'expérience	Rotation (1 = 2)	Sucre réducteur (en g. de glucose)	Sucre réducteur (p. 100)
Au départ	— 30'	0 g, 153	30,62
Après 4 jours . .		0 g, 179	35,80
Après 15 jours :		0 g, 144	28,94
Après un mois . .		651 '80	31,90

Si on examine les résultats obtenus, on voit que le pouvoir réducteur varie comme celui du buddléoside.

Le buddléoside ne semble pas hydrolysé par le suc digestif d'escargot.

2° *Essai d'hydrolyse par l'émulsine.* — On dissout 0 g, 5397 de buddléoside dans 50 cm³ d'eau. On note la déviation polarimétrique et on dose le sucre réducteur, le liquide est additionné de 0 g, 25 d'émulsine et de toluène et mis à l'étuve à + 30°. Au bout de quelques jours le liquide devient jaune orange, l'émulsine précipite au fond du flacon.

Nous avons noté les résultats suivants :

Durée de l'expérience	Rotation (1 = 2)	Sucre réducteur (en g. de glucose)	Sucre réducteur (p. 100)
Au départ	— 1° 2'	0 g, 144	27,31
Après 8 jours	— 1° 4'	0 g, 100	18,53
Après 15 jours . . .	— 1° 4'	0 g, 105	19,90

L'émulsine n'hydrolyse donc pas le buddléoside.

CHAPITRE III

Produits obtenus par hydrolyse acide

Nous avons cherché à déterminer quelle est la nature, d'une part du produit glucidique, d'autre part du produit non glucidique, qui prennent naissance au cours de l'hydrolyse acide du buddléoside.

ETUDE DU PRODUIT GLUCIDIQUE

Nos essais ont été effectués sur le liquide provenant de l'hydrolyse par la méthode suivante :

On met 2 grammes de buddléoside dans un ballon muni d'un réfrigérant à reflux et on ajoute 50 cm³ d'acide sulfurique à 3 p. 100. Le ballon est chauffé au bain de chlorure de calcium pendant quatre heures à l'ébullition. Au bout de ce temps, on filtre et on agite à l'éther trois ou quatre fois pour éliminer le produit non glucidique. Le liquide aqueux contenant le produit glucidique est alors neutralisé par l'hydrate de baryum ; l'excès de baryum est éliminé par un courant prolongé de gaz carbonique. Le liquide est filtré après un jour de repos, puis évaporé en consistance de sirop, que l'on reprend par l'alcool à 95°. La liqueur alcoolique, distillée jusqu'à siccité, abandonne un résidu sirupeux jaune clair. Celui-ci réduit la liqueur cupro-alcaline en lui communiquant

une teinte verte. Malgré tous nos essais le produit glucidique n'a pu être obtenu cristallisé. Nous avons alors effectué les réactions suivantes sur le sirop.

Réactions du produit glucidique. — En chauffant, au bain-marie, un peu de produit avec de l'orcinol dissous dans l'acide chlorhydrique concentré, on observe une coloration violette. Cette réaction est spécifique des pentoses.

Le produit est un acide, puisqu'il rougit le tournesol et dégage du gaz carbonique de la solution saturée de bicarbonate de sodium. Il donne des sels de plomb ou de baryum peu solubles dans l'eau, insolubles en milieu alcoolique.

Il réduit fortement la liqueur cupro-alkaline et l'azotate d'argent ammoniacal.

Il est précipitable par l'extrait de Saturne.

Le précipité obtenu par ce réactif mis en suspension dans l'eau, et traité par l'hydrogène sulfuré fournit un précipité rose.

En chauffant à l'ébullition la solution aqueuse de ce produit avec un volume égal d'acide chlorhydrique au demi, on observe l'odeur de furfurol, qui colore en rouge pourpre un papier imprégné d'acétate d'aniline.

Le produit additionné de deux ou trois gouttes de solution de naphтол α puis de 4 cm³ d'acide sulfurique concentré fournit un anneau violet à la limite de séparation du liquide.

A 5 cm³ de solution de produit, on ajoute 1 cm³ de solution alcoolique à 1 p. 100 de naphто-résorcinol et 5 cm³ d'acide chlorhydrique concentré; on chauffe pendant quinze minutes au bain-marie bouillant. Le liquide refroidi sous un courant d'eau est traité par son volume d'éther. La couche éthérée présente une coloration brune légèrement violacée.

D'ailleurs, les résultats obtenus par l'hydrolyse sulfurique nous ont donné des déviations polarimétriques nous permettant d'assigner au glucide formé un pouvoir rotatoire voisin de :

$$[\alpha]_D = + 19^\circ \text{ (trouvé } [\alpha]_D = + 18^\circ,4 \text{ et } [\alpha]_D = + 20^\circ,5)$$

Nous avons également pu préparer l'osazone de ce produit glucidique. On mélange une solution de ce produit avec un égal volume de solution d'acétate de sodium et de phénylhydrazine; on chauffe au bain-marie bouillant pendant quarante-cinq minutes. Au bout de ce temps, on laisse refroidir lentement dans le bain-marie. Il se forme une osazone, bien cristallisée en rosaces, que l'on recueille et que l'on sèche dans le vide sulfurique. Elle est soluble dans l'alcool. Au bloc Maquenne, elle fond nettement à $+ 174^\circ$.

Nous avons déterminé la composition élémentaire de deux échantillons différents d'osazone. La moyenne des résultats figure dans le tableau suivant :

	Trouvé	Théorie pour $C_{18} H_{20} O_5 N_4$
H p. 100	5,60	5,40
C p. 100	57,84	58,06
N p. 100	14,87	15,06

La formule proposée correspond à un acide uronique.

Les faits précédents corroborent cette hypothèse, en effet :

1° Le corps glucidique formé par hydrolyse du buddléoside est doué de propriétés acides;

2° Il possède une fonction aldéhydique (ou cétonique) puisqu'il est réducteur et qu'il donne une osazone.

Nous avons essayé d'en extraire la lactone selon le procédé de C. Neuberg (37). Nous n'y sommes pas parvenus.

Le corps obtenu n'est pas l'acide glycuronique : en effet, l'osazone obtenue fond nettement à $+ 174^{\circ}$ alors que Bernier (1) indique pour la glycurossazone $130^{\circ} - 132^{\circ}$. Il est vrai que Fleury et Ambert (30) ont indiqué un point de fusion plus élevé ($170^{\circ} - 175^{\circ}$).

De plus, la réaction du naphtho-résorcinol est nettement différente de celle donnée par l'acide glycuronique dans les mêmes conditions.

Nous pensons que le buddléoside se dédouble en fournissant une molécule d'un acide uronique de pouvoir rotatoire dextrogyre voisin de $+ 19^{\circ}$.

ETUDE DU PRODUIT NON GLUCIDIQUE

Le liquide d'hydrolyse sulfurique obtenu plus haut est agité trois ou quatre fois avec de l'éther, il cède à ce solvant le produit non glucidique de dédoublement. L'éther est chassé et on obtient un produit huileux non cristallisé, qui noircit à l'air. Il est soluble dans l'éther, l'alcool et l'eau, peu soluble dans le benzène, presque insoluble dans le chloroforme. Nous avons fait de nombreux essais de cristallisation sans résultats. Nous avons alors effectué les essais suivants sur le produit obtenu.

1° La solution de perchlorure de fer colore une solution aqueuse de produit en vert émeraude, la liqueur passe au violet par addition de bicarbonate de sodium.

2° Le réactif sulfurique formolé à 2 p. 100 donne une coloration rouge carmin.

3° Dissous dans l'alcool, le produit donne avec la lessive de soude, un anneau coloré en rouge surmonté d'un anneau verdâtre.

4° Il réduit fortement la liqueur cupro-alcaline.

Nous avons alors pensé que ce produit pourrait être du pyrocatéchol ou un de ses dérivés. Nous avons effectué les réactions suivantes comparativement avec le pyrocatéchol.

5° A une solution aqueuse de produit, on ajoute une solution de chlorure de calcium et quelques gouttes d'ammoniaque. On obtient un précipité tandis que le liquide se colore en rouge-bleu (dérivé calcique). Le résorcinol et l'hydroquinol ne précipitent pas dans ces conditions.

6° Un peu de produit dissous dans l'alcool absolu donne avec le sodium, une coloration rouge, puis rouge brun, enfin pourpre : un précipité se dépose au fond du tube (dérivé sodique).

7° Avec l'acide picrique il se forme un précipité orange peu abondant. Le résorcinol et l'hydroquinol ne donnent pas de précipité.

8° Il colore en rouge foncé le réactif de Libermann, en même temps que se dégage de l'oxyde d'azote.

9° Après addition de peroxyde de sodium à une solution de produit dans l'alcool absolu, on ajoute de l'eau, on observe les colorations suivantes : Avant addition d'eau, coloration verte ; après addition d'eau, coloration d'abord rouge, puis rouge brun. Une goutte de cette solution évaporée sur une capsule en porcelaine donne une tache brune.

10° La solution aqueuse de produit additionnée de potasse et agitée au contact de l'air se colore successivement en vert, puis en brun et enfin en noir.

11° Le produit sec chauffé avec de l'anhydride phtalique et quelques gouttes d'acide sulfurique concentré donne une coloration rouge due à l'alizarine.

12° Un peu de produit dissous dans l'eau additionné de

5 cm³ d'acétate de sodium à 10 p. 100 et 2 gouttes de chlorure mercurique à 5 p. 100 donne une coloration rouge violette quand on porte le mélange au voisinage de l'ébullition.

13° Il réduit fortement la solution d'azotate d'argent ammoniacal.

14° Dissous dans 2 cm³ de chloroforme et une goutte d'alcool, il donne à une pastille de potasse une coloration verte.

Toutes ces réactions sont données par le produit d'hydrolyse du buddléoside pourrait être le pyrocatéchol altéré

Nous avons pensé que le produit non glucidique de l'hydrolyse du buddléoside pourrait être le pyrocatéchol altéré par l'hydrolyse sulfurique prolongée; nous avons alors effectué les expériences suivantes :

A. On met 0 g, 5 de pyrocatéchol dans un ballon muni d'un réfrigérant à reflux et on ajoute 50 cm³ d'acide sulfurique à 3 p. 100, on chauffe au bain-marie bouillant pendant quatre heures. Au bout de ce temps, on agite le liquide à l'éther : l'éther évaporé abandonne des cristaux de pyrocatéchol que nous avons pu obtenir à l'état pur.

B. On mélange 0 g, 5 de pyrocatéchol et 0 g, 5 de buddléoside. L'hydrolyse est effectuée comme précédemment. L'éther abandonne un sirop dans lequel le pyrocatéchol a cristallisé.

Le produit d'hydrolyse acide du buddléoside n'est donc pas du pyrocatéchol : ce serait un homologue; cette hypothèse est confirmée par l'analyse élémentaire du buddléoside.

CHAPITRE IV

Analyse élémentaire et formule du Buddléoside

POIDS MOLÉCULAIRE

1° *Cryoscopie*. — Le poids moléculaire a été déterminé par cryoscopie. Le buddléoside est soluble dans l'eau. Pour avoir un abaissement du point de congélation suffisant, il nous a fallu employer une solution à 2,5 p. 100 environ.

Buddléoside	0 g, 547 ¹
Eau	19 g, 633
Abaissement de température	0°, 17
Buddléoside pour 100 gr. d'eau	2 g, 787

$$\text{P. M.} = \frac{18,6 \times 2,787}{0,17} = 305$$

2° *Formation de sel de plomb*. — En dehors de la détermination du poids moléculaire effectuée par cryoscopie et qui donne un poids de 305 pour le buddléoside, nous avons fait une détermination de poids moléculaire du buddléoside par calcination du sel de plomb et pesée en sulfate de plomb.

1) Poids de sel de plomb = 0 g, 1907.

Poids de sulfate de plomb = 0 g, 1166.

$$P. M. = \frac{0,1907 \times 303}{0,1166} - 207 + 2 = 291$$

2) Poids de sel de plomb = 0 g, 1080.

Poids de sulfate de plomb = 0 g, 0663.

$$P. M. = \frac{0,1080 \times 303}{0,0663} - 207 + 2 = 289$$

Analyse élémentaire

La recherche de l'azote est négative, le buddléoside est donc uniquement formé de carbone, hydrogène et oxygène.

L'échantillon destiné à l'analyse élémentaire est séché dans le vide sulfurique, puis laissé à l'air à l'abri des poussières pendant quelques jours; on détermine la teneur en eau et on met dans un flacon sec et bien bouché. Il ne subit plus que des variations de poids insensibles.

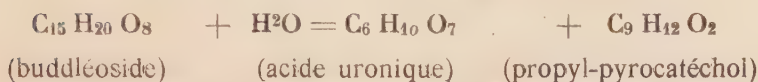
Les résultats sont exprimés en buddléoside anhydre.

Poids du corps sec	H ² O	CO ²	H p. 100	C. p. 100
1° 0 g, 1406	0,0746	0,2829	5,89	54,87
2° 0 g, 1380	0,0745	0,2769	5,94	54,80
3° 0 g, 1510	0,0844	0,3031	6,21	54,74
4° 0 g, 1614	0,0884	0,3243	6,14	54,79
En moyenne	H = 6,12 p. 100		C = 54,78 p. 100	

Formule

En s'appuyant sur les données précédentes, nous proposons, pour le buddléoside la formule C₁₅ H₂₀ O₈.

	Trouvé	Calculé
Poids moléculaire	305	328
C p. 100	54,78	54,88
H p. 100	6,12	6,09
L'équation de l'hydrolyse acide est :		



Le buddléoside se dédoublerait donc par hydrolyse en donnant un acide uronique ainsi que l'ont montré les résultats précédemment établis et en un corps de formule $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_2$. Nous avons vu plus haut que ce corps donnait toutes les réactions du noyau pyrocatélique. Aussi avons-nous pensé que ce produit est un homologue du pyrocatéchol : ce serait le propylpyrocatéchol. L'oxydabilité très grande du noyau pyrocatélique ne nous a pas permis d'obtenir ce corps pur.

L'acide uronique est réuni à l'aglycone par sa fonction réductrice copulée à une fonction phénolique de l'aglycone : en effet, le buddléoside est acide, grâce à la fonction acide libre de l'acide uronique : il possède les réactions de la fonction phénol, grâce à la seconde fonction phénol de l'aglycone.

QUATRIÈME PARTIE

Étude du Produit Mélanogène

Si nous prenons une feuille fraîche de *Buddleia* et que nous la mettions dans une cloche avec quelques gouttes d'éther, nous constatons que la feuille, verte tout d'abord, passe rapidement au noir. L'écorce et les tiges jeunes subissent également le noircissement dans les mêmes conditions. Ces organes séchés dans de mauvaises conditions présentent la même particularité. Quelle est la génèse de ce noircissement ? Telle est la question que nous voulons étudier dans ce chapitre.

La mélanogenèse de plantes peut être produite de différentes façons : ainsi, on constate l'action de ferments oxydants tels que la laccase ou la tyrosinase agissant, soit sur des phénols, tels que l'esculétol (12), le bolétol (9) ou l'orobérol (23), soit sur la tyrosine ainsi que l'a montré M. G. Bertrand (4, 5, 6, 7, 8, 11, 11 bis).

Cependant on sait que très souvent interviennent des hétérosides qui fournissent une matière colorante de trois manières différentes :

1° Hydrolyse diastasique et polymérisation du produit d'hydrolyse non glucidique. Les hétérosides rentrant dans cette catégorie sont l'aucuboside et l'aspéruloside qui donnent une matière colorante noire, l'aucuboside dans l'*Aucuba japo-*

nica L. (Bourquelot et Herissey) (16), le *Melampyrum arvense* L (Bridel et Braecke) (21), les graines de *Véronica hederæfolia* L (Charaux) (26) et dans le *Lathraea Clandestina* L (Bridel) (19); l'aspéruloside dans l'aspérule odorante (Hérissey) (33), la méliatoside (retiré du Trèfle d'eau) (Bridel) (17) et le montropéoside dans le *Monotropa Hypopitys* L (Bridel) (18) qui donnent une matière colorante bleue foncé.

2° Hydrolyse diastasique et oxydation ultérieure du produit d'hydrolyse de nature phénolique. L'arbutoside est hydrolysé en glucose et en hydroquinol, l'hydroquinol est oxydé en une matière brune. L'arbutoside joue, de la sorte, un rôle important dans la production des teintes automnales que prennent les feuilles de poirier, ainsi que l'ont montré Em. Bourquelot et A. Fichtenholz (15).

3° Oxydation directe sans hydrolyse préalable. Le seul hétéroside connu jusqu'ici comme donnant une matière colorante par ce processus est l'orobanchoside de l'*Orobanche Rapum* Thuill. Comme l'ont montré Bridel et Charaux (22).

Nous avons indiqué plus haut, dans l'étude biochimique des différents organes du *Buddleia* que cette plante renferme un hétéroside hydrolysable par l'émulsine et par l'acide sulfurique en donnant un produit noir insoluble dans l'eau : son indice de réduction enzymolytique est voisin de 180. Or, nous avons isolé déjà deux hétérosides de cette plante, mais ils ne sont pas dédoublés par l'émulsine. Leur hydrolyse par l'acide sulfurique dilué ne produit pas de précipité noir. Il doit donc exister un troisième hétéroside hydrolysable par l'émulsine et provoquant la mélanogenèse.

Nous avons pensé que l'hétéroside noircissant du *Buddleia* appartient à la première catégorie; hydrolysé par l'émulsine, il fournit un produit noir comme l'aucuboside et l'aspé-

ruloside. Nous avons alors mis en œuvre les méthodes d'extraction indiquées par les auteurs qui se sont occupés de ces produits.

Nous n'avons pu obtenir l'hétéroside provoquant le noircissement du *Buddleia* à l'état cristallisé. Cependant les expériences suivantes nous permettent d'en affirmer l'existence et d'en fixer quelques propriétés.

Le principe de la méthode de séparation de l'hétéroside mélanogène est le suivant :

Le produit comme nous le verrons plus loin, n'est précipité, ni par l'extrait de Saturne, ni par la magnésie ou la chaux en milieu alcoolique. De plus, il est très soluble dans l'eau, presque insoluble dans l'acétone anhydre. Il est infermentescible.

1 kilo de feuilles de *Buddleia* sont épuisées à l'alcool bouillant et privées de buddléoflavonolose (v. p. 25). La liqueur aqueuse est distillée à sec dans le vide. L'extrait est dissous à chaud dans 50 cm³ d'alcool à 95°, puis on ajoute 200 cm³ d'acétone anhydre. Il se dépose un extrait abondant qui est entièrement privé du buddléoside passé en solution alcool-acétonique. Ce liquide peut servir à l'extraction du buddléoside.

L'extrait résiduel dissous dans l'eau distillée est entièrement précipité par l'extrait de Saturne. Le liquide est filtré et le filtrat débarrassé de l'excès de plomb par un courant d'hydrogène sulfuré. On filtre et distille le filtrat dans le vide sans dépasser + 50°. L'extrait obtenu est incolore : il renferme des sucres divers (glucose, fructose, saccharose...) et l'hétéroside générateur du noircissement. On peut éliminer les sucres de deux façons :

1° L'extrait est dissous dans l'eau, puis additionné de

levure de bière haute. Au bout de quelques jours, le liquide ne renferme plus que des traces de sucre réducteur.

2° L'extrait peut être déféqué à la magnésie ou à la chaux qui forment avec les sucres des sucrales de calcium ou de magnésium insolubles dans l'alcool. Pour cela l'extrait est dissous dans deux fois son poids d'eau, on y ajoute son poids de magnésie calcinée et on dessèche le tout à l'étuve. Le magma obtenu est pulvérisé et épuisé à l'alcool à 95° à l'ébullition. Par évaporation à sec, on obtient un extrait dont le pouvoir réducteur est très faible et dont le pouvoir rotatoire est lévogyre. C'est sur cet extrait purifié que nous avons étudié les principales propriétés de cet hétéroside noircissant.

PROPRIÉTÉS PHYSIQUES ET CHIMIQUES

Cet hétéroside est très soluble dans l'alcool absolu, dans l'alcool méthylique, et dans l'eau. Il est insoluble dans l'acétone, l'éther ; l'éther acétique à l'ébullition n'en dissout que fort peu.

Il est lévogyre et possède une saveur amère.

Cet hétéroside ne précipite ni par l'extrait de Saturne, ni par la magnésie, ni par la chaux. Il ne donne aucune coloration avec le perchlorure de fer.

Cet hétéroside fournit une réaction colorée qui le rapproche de l'aucuboside et de l'aspéruloside, avec lesquels il présente comme on l'a vu, certaines analogies. Si comme M. C. Charaux l'a fait pour l'aucuboside, on met une goutte de solution diluée d'hétéroside dans 5 cm³ d'alcool à 90° et que l'on chauffe au bain-marie après addition d'une goutte d'acide chlorhydrique officinal, il se développe une belle coloration bleue très stable. Cette réaction est très sensible.

Une autre réaction le rapproche de l'aucuboside : si on acidifie par l'acide sulfurique dilué une solution froide d'hétéroside, on constate qu'au bout d'un jour il s'est déposé un produit pulvérulent noir provenant sans doute de la polymérisation de l'hétéroside par l'acide à froid. Tous les acides minéraux produisent ce phénomène à concentration très faible (1 p. 100 environ). L'acide acétique produit aussi ce dépôt aux mêmes concentrations.

On obtient ainsi 5 grammes de produit noir par kilo de tiges et 7 gr. par kilo de feuilles. Ce produit noir libère du sucre réducteur quand on l'hydrolyse à chaud par l'acide sulfurique dilué; ce qui confirme l'hypothèse de la polymérisation de l'hétéroside primitif.

L'hétéroside est hydrolysable par l'émulsine et par l'acide sulfurique dilué à chaud.

Hydrolyse par l'acide sulfurique à 3 p. 100.

On met 10 cm³ de solution de cet hétéroside et 10 cm³ d'acide sulfurique à 6 p. 100 dans des tubes scellés, chauffés au bain-marie bouillant, on trouve les résultats suivants :

	Rotation (l = 2)	Sucre réducteur	Indices
avant l'hydrolyse	— 3° 4'	indosable	
après 1 heure	+ 14'	0 g, 660	200
après 2 heures	+ 32'	0 g, 756	210
après 3 heures	+ 32'	0 g, 756	210

En deux heures, l'hydrolyse est terminée. On observe que le liquide se trouble d'abord, puis au bout d'une demi heure, on observe le dépôt d'un produit noir amorphe qui augmente lentement ensuite. On note un retour de la dévia-

tion vers la droite de $3^{\circ}36'$. Le sucre réducteur est nul, mais après hydrolyse il est de 0 g, 756 p. 100 cm³ de liquide. L'indice de réduction est de 210, voisin de ceux que nous avons obtenus dans l'étude biochimique des différents organes du Buddleia.

Hydrolyse par l'émulsine

A 20 cm³ d'une solution aqueuse dont la déviation polarimétrique est de $\alpha = -10^{\circ}44'$, et renfermant 0 g, 183 p. 100 de sucre réducteur, on ajoute 0 g, 20 d'émulsine et quelques gouttes de toluène, on met à l'étuve à $+30^{\circ}$. Après deux heures, la liqueur commence à prendre une teinte jaune brune, puis elle dépose un précipité noir. Après huit jours, la solution filtrée accuse encore une rotation lévogyre de $-1^{\circ}44'$, le sucre réducteur a augmenté de 1 g, 925, soit un indice de 214. On ajoute de nouveau de l'émulsine (0 g, 10). Il se forme encore un précipité noir. Après dix-sept jours, on filtre la liqueur. Le pouvoir rotatoire est de $\alpha = -0$. Le sucre réducteur a peu augmenté. On ajoute encore 0 g, 05 d'émulsine et met à l'étuve à $+30^{\circ}$. Le lendemain, on n'observe aucun changement d'aspect. Après vingt-cinq jours, la liqueur est légèrement brune, mais ne présente aucun précipité noir. On filtre et défèque avec une goutte d'extrait de Saturne. La déviation est de $\alpha = +12'$ et le sucre réducteur a augmenté de 2 g, 273 p. 100, soit un indice de 208.

L'hydrolyse de ce produit par l'émulsine est donc très nette; elle est assez lente et présente en cela de remarquables analogies avec l'hydrolyse de l'aspéruloside. Le ferment voit son action arrêtée par la production du précipité noir qui précipite l'émulsine.

CONCLUSIONS

I. — Nous avons appliqué la méthode biochimique à l'invertine et à l'émulsine à l'étude des glucides des différents organes du *Buddleia*. Au cours des essais biochimiques, nous avons mis en évidence dans cette plante deux produits nouveaux pour lesquels nous ne connaissons pas de ferment capable d'en effectuer l'hydrolyse. Nous les avons extraits et nommés : *buddléoflavonolosite* et *buddléosite*.

En outre, dans tous les organes : boutons, fleurs, fleurs fanées, fruits, feuilles, écorces et tiges, la méthode biochimique indique la présence d'un holoside hydrolysable par la sucrase et d'un hétéroside hydrolysable par l'émulsine en provoquant un dépôt noir.

II. — *Buddléoflavonolosite*. — Cet hétéroside existe dans tous les organes du *buddleia*. Il a été obtenu à l'état pur et cristallisé en aiguilles blanc crème.

Il ne possède ni odeur, ni saveur.

Il cristallise avec 1,5 molécule d'eau.

Il se conserve à l'air sans altération.

Il fond au bloc Maquenne, instantanément à $+ 274^{\circ} - 276^{\circ}$.

Il est légèrement réducteur.

Il est lévogyre. Le produit hydraté possède en solution acétique un pouvoir rotatoire de : $[\alpha]_D = - 97^{\circ}35$.

En solution pyridinique de : $[\alpha]_D = - 101^{\circ},7$.

Il est fort peu soluble dans les solvants ordinaires.

Le buddléoflavonoloside résiste à l'action hydrolysante de l'émulsine, de la rhamnodiastase et du suc digestif d'escargot.

Il est hydrolysé à l'ébullition par l'acide sulfurique à 6 p. 100 en 12 heures, ou par un mélange de 20 cm³ d'acide acétique pur et de 30 cm³ d'acide sulfurique à 6 p. 100 en six heures, en donnant un produit jaune, non glucidique, insoluble dans l'eau : le buddléoflavonol (49,9 p. 100), et un produit glucidique (53,7 p. 100).

Le produit glucidique est un mélange de glucose et de rhamnose.

Le rhamnose a été obtenu à l'état pur et cristallisé.

Le glucose a été identifié par la formation de méthylglucoside β.

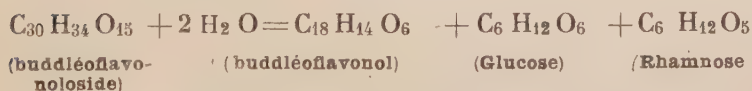
Le buddléoflavonol est cristallisé en aiguilles fondant à + 265°. Il est soluble dans l'acétone et dans l'acide acétique pur, insoluble dans l'eau.

Il est inactif sur la lumière polarisée.

Il est légèrement réducteur.

Il est stable à l'air.

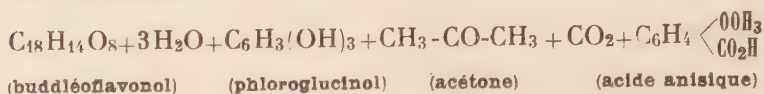
L'équation d'hydrolyse est la suivante :



La constitution chimique du buddléoflavonol a été établie en le soumettant à une fusion alcaline.

Le buddléoflavonol se dédouble ainsi en phloroglucinol et acide anisique qui ont été obtenus cristallisés, et en acétone que de nombreuses réactions ont identifié en toute certitude.

L'hydrolyse alcaline du buddléoflavonol répond à l'équation ci-dessous :



Seules restent indéterminées les relations du glucose et du rhamnose entre eux et avec l'aglycone.

III. — *Buddléoside*. — Cet hétéroside obtenu à l'état pur, n'est pas cristallisé.

Il possède une saveur amère et brûlante.

Son point de fusion manque de netteté.

Il est très soluble dans les dissolvants ordinaires.

Dans le vide sulfurique, il perd 6,26 p. 100 d'eau.

Il se conserve à l'air sans altération, mais il augmente ou diminue de poids suivant l'état hygrométrique de l'air.

Il est lévogyre. Son pouvoir rotatoire en solution aqueuse est de $[\alpha]_D = -52^{\circ},02$.

Il est réducteur.

Il possède une fonction acide libre.

Il est hydrolysable par l'acide sulfurique à 3 p. 100 en quatre heures au bain-marie bouillant en donnant un produit non glucidique, soluble dans l'eau, et un produit glucidique.

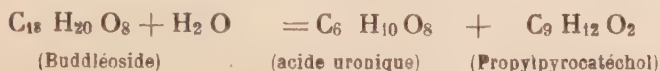
Il résiste à l'action de l'émulsine, de la rhamnodiastase et du suc digestif d'escargot.

Le produit glucidique présente une fonction acide libre. Il nous a fourni une osazone cristallisée et pure fondant nettement à $+174^{\circ}$. L'analyse de cette osazone nous a amenés à penser que le produit glucidique d'hydrolyse du buddléoside est un acide uronique.

Le produit non glucidique est un corps homologue du

pyrocatéchol, puisqu'il donne des réactions identiques à celles du pyrocatéchol.

La composition centésimale du buddléoside nous a permis d'établir l'équation d'hydrolyse suivante :



IV. — Nous avons employé plusieurs méthodes classiques pour essayer d'obtenir à l'état pur l'hétéroside provoquant le noircissement des différents organes du *Buddleia*. Son extraction n'a pas pu être réalisée. Cet hétéroside est très hygroscopique.

Il possède une saveur amère.

Il est très soluble dans l'alcool absolu, l'alcool méthylique et l'eau. Il est insoluble dans l'éther, l'éther acétique et l'acétone.

Il est lévogyre.

Il donne la réaction de Charaux.

Il est hydrolysé par l'émulsine et par l'acide sulfurique dilué en donnant un produit non glucidique, noir, insoluble dans l'eau et un sucre réducteur.

L'indice de réduction par l'émulsine ou par l'acide sulfurique est de 210.

L'hétéroside, par son dédoublement fermentaire au cours de l'autolyse des feuilles en provoque le noircissement.

Il présente de grandes analogies avec l'Aspéruloside.

BIBLIOGRAPHIE

1. BERNIER (R.). — Sur la caractérisation de l'acide glycuronique dans l'urine. *Journal de pharm. et de chim.* (7), 1910, T. 2, p. 401.
2. BERTRAND (G.). — Sur quelques réactions colorées des hydrates de carbone. *Bull. Soc. Chim.* (3), 1891, T. 6, p. 259.
- 2 bis. BERTRAND (G.). — Rectification au Mémoire de M. P. Thomas sur une nouvelle réaction de pentoses. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1925, t. 17, p. 437.
3. BERTRAND (G.). — Recherche sur le latex de l'arbre à laque du Tonkin. *Bull. Soc. Chim.* (3), 1894, T. 11, p. 717.
4. BERTRAND (G.). — Sur la recherche et la présence de la laccase dans les végétaux. *Bull. Soc. Chim.* (3), 1895, T. 13, p. 1095.
5. BERTRAND (G.). — Sur la présence simultanée de la laccase et de la tyrosinase dans le suc de quelques champignons. *C. R. Acad. Sciences*, 1896, T. 123, p. 463.
6. BERTRAND (G.). — Sur la séparation de la laccase et de la tyrosinase contenues dans le suc de certains champignons. *Bull. Soc. Chim.* (3), 1896, T. 15, p. 1218.

7. BERTRAND (G.). — Recherche sur la laccase, nouveau ferment soluble à propriétés oxydantes. *Ann. de Chim. et de Phys.* (7), 1897, T. 12, p. 115.
8. BERTRAND (G.). — Sur l'extraction du bolétole. *C. R. Acad. Sciences*, 1902, T. 134, p. 124.
9. BERTRAND (G.). — Sur le bleuissement de certains champignons du genre *Boletus*. *Bull. Soc. chim.* (3), 1902, T. 27, p. 451.
10. BERTRAND (G.). — Sur le dosage des sucres réducteurs. *Bull. Soc. Chim.*, 1906, T. 35, p. 1.285.
11. BERTRAND (G.). et Mlle DJORITCH (Y.). — Sur un nouveau chromogène cristallisé, l'esculétole, retiré du marronnier d'Inde. *C. R. Acad. Sciences*, 1924, T. 178, p. 1.233.
- 11 bis. BERTRAND (G.) et MOTERMITCH (W.). — Sur le phénomène de coloration du pain bis. *Bull. Soc. Chim.* (4), 1907, t. 1, p. 1.048.
12. BOUGAULT (J.). — Oxydation de l'améthole et des composés analogues à chaîne propénylique. *Thèse doct. ès Sciences*, Paris, 1902.
13. BOUGAULT (J.) et GROS (R.). — Nouvelles applications analytiques du réactif de Nessler. Caractérisation des cétones, dosage des aldéhydes. *Journ. de ph. et de chim.* (7), 1922, T. 26, p. 5.
14. BOURQUELOT (Em.). — Recherche dans les végétaux du sucre de canne à l'aide de l'invertine et des glucosides à l'aide de l'émulsine. *Journ. de Pharm. et de Chim.* (6), 1901, T. 14, p. 481.
15. BOURQUELOT (Em.) et Mlle FICHTENHOLZ (A.). — Sur présence d'un glucoside dans les feuilles de poi-

- rier et sur son extraction. *Journ. de pharm. et de chim.* (7), 1910, T. 2, p. 97.
16. BOURQUELOT (Em.) et HÉRISSEY (H.). — Sur l'aucubine, glucoside et l'*Aucuba japonica* L. *Ann. de chim. et de phys.* (8), 1905, T. 4, p. 289.
17. BRIDEL (M.). — Sur la méliatine, glucoside nouveau, retiré du Trèfle d'eau. *Journ. de Pharm. et de Chim.* (7), 1911, T. 4, p. 49.
18. BRIDEL (M.). — Etude biochimique sur la composition du *Monotropa Hypopitys* L. Obtention d'un nouveau glucoside, la monotropéine. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1923, T. 5, p. 722.
19. BRIDEL (M.). — Recherches sur les variations de coloration des plantes au cours de leur dessiccation. Le glucoside du *Lathraea Clandestina* L. est l'aucuboside (aucubine). *Journ. de Pharm. et de Chim.* (8), 1929, T. 10, p. 97.
20. BRIDEL (M.). — Sur l'hydrolyse par l'émulsine de deux glucosides considérés comme non hydrolysables par ce produit fermentaire : Asébotoside (asébotine) et Phlorizoside). *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1930, T. 12, p. 921.
21. BRIDEL (M.). et Mlle BRAECKE (M.). — Sur la présence de mélampyrite et d'aucubine dans les tiges foliées du *Melampyrum arvense* L. *Journ. de Pharm. et de Chim.* (7), 1922, T. 25, p. 449.
22. BRIDEL (M.) et CHARAUX (C.). — L'orobanchine, glucoside nouveau retiré des tubercules frais de l'Orobanche *Rapum* Thuill. *Bull. Soc. Chim.* (4), 1924, T. 35, p. 153.
23. BRIDEL (M.) et CHARAUX (C.). — Recherche sur les

variations de coloration de plantes au cours de leur dessiccation. Sur un nouveau chromogène, l'orobérol retiré de l'*Orobis tuberosus* L. *Bull. soc. chim. Biol.*, 1930, T. 12, p. 317.

24. BRIDEL (M.) et LAVIELLE (R.). — Le principe sucré du Kaàhêé II. L'hydrolyse diastasique du stévioside. *Bull. soc. chim. Biol.*, 1931, T. 13, p. 782.
25. CAHOIRS (A.). — Sur les essences de Fernouil, de Badiane et d'Anis. De l'action de l'acide nitrique sur l'essence d'Anis. *Ann. de chim. et de phys.* (3), 1841, T. 2, p. 287.
26. CHARAUX (C.). — Sur la présence de l'aucubine dans les graines de *Veronica Hederaefolia* L. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1922, T. 4, p. 568.
27. CHARAUX (C.). — Sur le dédoublement biochimique de la rutine. Rutinose, nouveau biose, provenant de ce dédoublement. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1924, T. 6, p. 631.
28. CHARAUX (C.). — Sur le dédoublement biochimique du Robinoside (robinine). Robinose, nouveau triose provenant de ce dédoublement. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1926, T. 8, p. 913.
29. DENIGÈS (G.). — Détermination de l'acétone urinaire, par distillation. *Bull. Soc. Pharm.*, Bordeaux, 1910, p. 102.
30. Fleury (P.) et AMBERT (P.). — Contribution à l'étude du carbone indosé et du carbone glucidique de l'urine normale. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1930, T. 12, p. 1.265.
31. GERNEZ. — Sur le pouvoir rotatoire du Rhamnose (iso-

- dulcite) surfondu. *C. R. Acad. Sciences*, 1895, T. 121, p. 1.150.
32. GIAJA (A.). — Etude des ferments des glucosides et des hydrates de carbone chez les mollusques et chez les crustacés. *Thèse Doct. ès Sciences*, Paris, 1909.
33. HÉRISSEY (H.). — Sur la composition chimique de l'Aspérule odorante. Extraction et propriétés d'un nouveau glucoside, l'Aspéruloside. *Bull. Soc. Ch. Biol.*, 1925, T. 7, p. 1.009.
34. HLASIWETZ et PFAUNDLER. — *Jahresb. Uber die Fortschritte der Chemie*, 1864, p. 564.
- 35 a. LAURENT. — Sur la série Dracanique. *Revue scientifique*, 1842, T. 10, p. 6.
- 35 b. LAURENT. — Sur la série Dracanique et Anisique. *Revue scientifique*, 1842, T. 10, p. 362.
36. LIEBERMANN. — Ueber die Einwirkung des salpetrigen Säure auf Phenole. *Ber. Deuts. Chem. Gesells.*, 1874, T. 7, p. 247.
37. NEUBERG (C.). — Zur Kenntniss der Glucuronsäure. *Ber. Deuts. Chem. Gesells.*, 1900, T. 33, p. 3.315.
38. ONSLOW (M. W.). — *Practical Plant Biochemistry*, 1929, p. 121.
39. SMARAWSKI. — Ueber die Kalischmelze des Rhamnetins. *Ber. Deuts. Chem. Gesells.*, 1879, T. 12, p. 1.595.
40. WILL (W.). — Ueber das Naringin. *Ber. Deuts. Chem. Gesells.*, 1885, T. 18, p. 1.317.
-

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté Formation et Devenir des Hétérosides chez les Végétaux

Vu et approuvé :
Paris, le 10 Novembre 1932.
Le Doyen de la Faculté des Sciences,
Ch, MAURAIN.

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
CHARLÉTY.

